



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica – PPGTQB/UnB

**ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO EM FÓSSEIS DE  
VERTEBRADOS DO GRUPO BAURU, CRETÁCEO SUPERIOR, BRASIL**

**FELIPE MENDES DOS SANTOS CARDIA**

Brasília-DF, Junho de 2018.



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Química e Biológica – PPGTQB/UnB

**ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DE MERCÚRIO EM FÓSSEIS DE  
VERTEBRADOS DO GRUPO BAURU, CRETÁCEO SUPERIOR, BRASIL.**

**FELIPE MENDES DOS SANTOS CARDIA**

Defesa de Tese de Doutorado no curso de Tecnologias Química e Biológica da  
Universidade de Brasília (PPGTQB).

**Área de Concentração:** Tecnologia Biológica

**Linha de Pesquisa:** Monitoramento, Controle e Remediação Ambiental

**Orientadores:**

Dr. José Vicente Elias Bernardi

Dr. Rodrigo Miloni Santucci (co-orientador)

## **Folha de Aprovação**

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese do (a) aluno (a) **Felipe Mendes dos Santos Cardia**, matrícula nº **14/0106448**, intitulada “**Análise da Concentração de Mercúrio em Fósseis de Vertebrados do Grupo Bauru, Cretáceo Superior, Brasil**”, apresentada no (a) Auditório Lauro Morhy do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 28 de junho de 2018.

Prof. Dr. José Vicente Elias Bernardi  
Presidente de Banca (FUP/UnB)

Prof. Dr. Jurandir Rodrigues de Souza  
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof. Dr. André Eduardo Piacentini Pinheiro  
Membro Titular (UERJ)

Prof. Dr. Ricardo Lourenço Pinto  
Membro Titular (IG / UnB)

Prof. Dr. Alex Fabiano Cortez Campos  
Membro Suplente (FUP/UnB)

Em 28 de junho de 2018.

## **AGRADECIMENTOS**

Devo ressaltar o privilégio de poder agradecer a todos aqueles que estiveram direta ou indiretamente envolvidos com um trabalho que se estendeu ao longo de vários anos.

De partida, agradeço à minha família, que sem o apoio não teria sido possível a realização desta Tese e de outras etapas da minha formação. Por isso, agradeço à minha mãe, ao meu pai e ao meu irmão.

Ainda nesse campo, agradeço a minha querida Daniely Soares “Bochecha”, cujo ouvido escutou bastante sobre crocodilos e mercúrio nos últimos anos, ainda que devo admitir que há dado ela, muitas vezes, mais trabalho do que a própria tese. Obrigado, sua ajuda foi imprescindível.

Aos amigos Roni Carlos, Fabricio Paz e Albert Reis por estarem presentes sempre que precisei, por toda ajuda e incentivo.

À professora Lenora Gandolfi, médica brilhante, grande incentivadora e companheira extensionista.

Ao laboratório de Química Analítica e Ambiental da Universidade de Brasília (LQQA/UnB), tão bem representado pelo professor Jurandir Rodrigues.

Aos meus amigos de bancada Lourdes Morais, Geraldo Martins e João Victor cujas virtudes de companheirismo e espírito científico levarei como retrato de vocês.

Aos meus amigos paleontólogos e colegas de laboratório Adriano Mineiro, Glauber Cunha, Roberto Ricart, Fábio de Oliveira, Henrique Tomassi, Joyce Celerino, Lucila Monteiro e Marcos Dumont, por toda ajuda, entusiasmo e memoráveis saídas de campo.

Ao Carlos Eduardo (Instituto Federal de Votuporanga), William Nava (Museu de Paleontologia de Marília), Sandra Tavares e Fabiano Iori (Museu de Paleontologia de Monte Alto), Max Langer (USP-Ribeirão Preto) e Luiz Carlos Borges Ribeiro e Thiago Marinho (Museu dos Dinossauros-Peirópolis), por gentilmente terem me recebido em suas instituições e pelo empréstimo de parte das amostras utilizadas nesse estudo.

Por fim, agradeço aos meus orientadores José Vicente Elias Bernardi e Rodrigo Miloni Santucci por acreditarem neste projeto, pela liberdade e pelos conselhos na medida certa. Sou muito grato pela orientação sólida, cuidadosa e paciente.

## RESUMO

O presente trabalho de Doutorado tem como escopo o desenvolvimento de metodologia de estudo e análise em fósseis, utilizando o elemento Mercúrio (Hg) como marcador químico para a identificação dos fenômenos de Bioacumulação e Biomagnificação trófica em paleoecossistemas, e outras implicações para estudos paleontológicos. Em síntese, aqui foi realizada a determinação da concentração de Mercúrio Total (HgT) em fósseis de vertebrados do Cretáceo Superior continental brasileiro. Os materiais analisados foram coletados nas formações Adamantina, Uberaba e Marília do Grupo Bauru e correspondem a rochas sedimentares e fósseis de dentes, ossos, placas dérmicas, escamas de peixes, carapaças de tartarugas e cascas de ovos referentes de peixes, testudinos, anfíbios, crocodilomorfos notossúquios, dinossauros (saurópodes e terópodes) e aves. A metodologia de estudo aqui proposta é baseada na técnica de espectrometria de absorção atômica Zeeman, sendo determinadas nas amostras analisadas concentrações que variaram entre 2 e 77 ng.g<sup>-1</sup> de mercúrio total (HgT). Foram registradas leves flutuações nos valores de mercúrio nas diferentes matrizes analíticas, prevalecendo dentes e ossos como os materiais com a melhor capacidade de aprisionamento de Hg e os mais indicados para este tipo de análise. Os resultados apontam diferentes concentrações de Hg entre os táxons analisados e valores relativamente iguais para espécimes pertencentes a um mesmo clado, independentemente da formação geológica em que foram encontrados. Os táxons analisados foram posicionados em níveis tróficos, sendo classificados como consumidores primários, consumidores intermediários e consumidores de topo de cadeia alimentar dos paleoecossistemas do Grupo Bauru no Neocretáceo. A bioacumulação foi descrita na diferença dos valores de Hg entre indivíduos jovens e adultos de *Crocodylomorpha* com até 38% mais Hg para o adulto. Este fenômeno foi relacionado à contínua exposição destes animais em seus paleoecossistemas. Este estudo, de maneira inédita, revela o potencial da bioacumulação de Hg em fósseis de vertebrados para a Paleontologia, uma vez que foi possível determinar em uma evidência direta de predação em crocodiliformes (fóssil in fóssil) a biomagnificação trófica, com aproximadamente 50% mais Hg para o predador analisado, o crocodilomorfo *Aplestosuchus*. A metodologia de estudo aqui apresentada se demonstra como uma ferramenta importante, acessível e eficaz à quantificação de Hg em fósseis, podendo ser aplicada a diferentes regiões do globo ou distintos períodos geológicos.

**Palavras-chave:** vertebrados fósseis, mercúrio total, posição trófica, bioacumulação, biomagnificação, paleoecologia, Grupo Bauru.

## ABSTRACT

The present PhD thesis proposed a methodology of study and analysis in fossils, using the element Mercury (Hg) as a chemical marker for the identification of the phenomena of Bioaccumulation and Trophic Biomagnification in paleoecosystems and other implications for paleontological studies. In summary, the concentration of Total Mercury (THg) in vertebrate fossils of the Brazilian continental Upper Cretaceous was determined. The analyzed materials were collected from the Adamantina, Uberaba, and Marília formations, and correspond to sediments and fossils of teeth, bones, dermal scutes, fish scales, turtle shells, and eggshells comprising fish, turtles, amphibians, crocodylomorphs, dinosaurs (sauropods and theropods), and birds. The methodology proposed here is based on the Zeeman atomic absorption spectrometry, being determined in the analyzed samples concentrations ranging from 2 to 77 ng.g<sup>-1</sup>. There were slight fluctuations in mercury values in different analytical matrices, with teeth and bones being the materials with the best capacity for trapping Hg and, therefore, the best remains for this type of analysis. The results indicate different concentrations of Hg among the analyzed taxa and relatively equal values for specimens belonging to the same clade regardless the geological formation in which they were found. The analyzed taxa were assigned to trophic levels, being classified as primary consumers, intermediate consumers, and top predators of the Bauru Group paleoecosystems. Bioaccumulation was described on the basis of the difference in Hg values between juvenile and adult Crocodylomorpha individuals showing up to 38% more Hg in adult specimens. This phenomenon was related to the continuous Hg exposure of these animals in their paleoecosystems. This original study reveals the potential of Hg bioaccumulation in vertebrate fossils for Paleontology, since it was validated on the basis of direct evidence of predation in crocodyliforms (fossil in fossil), with approximately 50% more Hg in the analyzed predator, the crocodylomorph *Aplestosuchus*. The present study methodology is an important, accessible, and effective tool for the quantification of Hg in fossils and can be applied to different regions of the globe or geological periods.

**Key words:** fossil vertebrates, total mercury, trophic levels, bioaccumulation, biomagnification, Paleocology, Bauru Group.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>12</b>
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. O Contexto Geológico e Paleontológico do Grupo Bauru .....	13
1.2. HIPÓTESE DE TRABALHO .....	19
1.2.1. Primeira Hipótese .....	19
1.2.2. Segunda Hipótese .....	19
1.3. JUSTIFICATIVA .....	18
1.4. OBJETIVOS .....	20
1.4.1. Objetivo Geral .....	20
1.5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
1.6. A ESTRUTURA DA TESE .....	22
1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	24
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>30</b>
2. ESTUDOS GEOQUÍMICOS .....	31
2.1. Geoquímica de Isótopos Estáveis .....	32
2.2. Isótopos Estáveis .....	33
2.3. Fracionamento Isotópico .....	38
2.4. Método Analítico de Espectroscopia de Massas .....	40
2.5. Material de Referência.....	43
2.6. Análise em ossos e dentes .....	43
2.7. Da contaminação diagenética de amostras. ....	47
2.8. Isótopos Estáveis de Carbono.....	48
2.9. Isótopos estáveis de oxigênio .....	51
2.10. Isótopos estáveis de estrôncio.....	53
2.11. Aspectos gerais do mercúrio e bioacumulação.....	54
2.12. Propriedades físicas e químicas do mercúrio .....	56
2.13. Ciclo global do mercúrio .....	58
2.14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	64
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>78</b>
3.1. INTRODUCTION .....	80
3.2. MATERIAL AND METHODS.....	82
3.2.1. Geological setting .....	82
3.2.2. Sampling Procedure and Preparation.....	83
3.2.3. Analytical Procedures and Instrumentation for THg Analysis .....	86
3.3. RESULTS .....	88
3.4. DISCUSSION.....	89
3.5. CONCLUSIONS .....	94
3.6. ACKNOWLEDGEMENTS .....	96
3.7. REFERENCES .....	97



<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>110</b>
4.1. INTRODUÇÃO.....	112
4.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	114
4.2.1. Área de estudo.....	114
4.2.2. Procedimento de Amostragem e Preparação.....	115
4.2.3. Procedimentos Analíticos e Instrumentação para Análise de Hg.....	116
4.3. RESULTADOS.....	118
4.3.1. Resultados Estatísticos.....	121
4.4. DISCUSSÃO.....	123
4.5. CONCLUSÃO.....	129
4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	131
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>143</b>
5.1. CONCLUSÕES.....	144
ANEXO 1.....	147
ANEXO 2.....	148
ANEXO 3 – Material Suplementar de Análise HgT em Triplicatas.....	149
ANEXO 4 – Curvas Analíticas.....	162
ANEXO 5 – Figuras de Desempenho Analítico.....	163
ANEXO 6 – Estudo geoquímico.....	165

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> - Mapa geológico da Bacia Bauru.....	14
<b>Figura 1.2</b> - Mapa litoestratigráfico da Bacia Bauru, com ênfase na região oriental. ..	15
<b>Figura 1.3</b> - Esquema crono e litoestratigráfico do oeste de São Paulo, Grupo Bauru..	16
<b>Figura 2.1</b> - Números de Prótons (Z) e nêutrons (N) de isótopos estáveis em círculos fechados e de instáveis de círculos abertos .....	36
<b>Figura 2.2</b> - Decaimento radioativo do $^{238}\text{U}$ até o $^{206}\text{Pb}$ .....	38
<b>Figura 2.3</b> - Representação esquemática de um espectrômetro de massas para análise de isótopos estáveis. ....	41
<b>Figura 2.4</b> - Diagrama do processo de análise em espectroscopia de massas.....	42
<b>Figura 2.5</b> - Morfologia e linhas de crescimento de dente de Crocodiliforme.....	46
<b>Figura 2.6</b> - Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de plantas e animais (colágeno) em ambientes terrestres e marinhos.....	50
<b>Figura 2.7</b> - Formação do metilmercúrio por bactérias aeróbicas.....	57
<b>Figura 2.8</b> - Ciclo do mercúrio em um lago e sua bacia hidrográfica. ....	60
<b>Figura 3.1</b> - Geological map of the Bauru Group showing the location of the sampling sites (Jales and Fernandópolis).....	83
<b>Figura 3.2</b> - Proposed mercury cycle.....	91
<b>Figura 4.1</b> - Mapa geológico do Grupo Bauru. Modificado de Fernandes (1998), Fernandes & Coimbra (1996). ....	115
<b>Figura 4.2</b> - Análise de Cluster.....	122
<b>Figura 4.3</b> - Concentração de Hg nos principais táxons de vertebrados fósseis encontrados nas formações Adamantina, Uberaba, Marília do Grupo Grupo.....	126

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 2.1</b> - Descrição das principais razões isotópicas e material de referência para Isótopos Estáveis. ....	35
<b>Tabela 2.2</b> - Diferentes combinações entre prótons e nêutrons de números pares e ímpares que ocorrem nos núclídeos.....	36
<b>Tabela 2.3</b> - Padrões para isótopos estáveis.....	43
<b>Tabela 2.4</b> - Classificação dos fosfatos de cálcio conforme a razão Ca/P.....	45
<b>Tabela 2.5</b> - Métodos mais frequentes utilizados para quantificação de mercúrio e seu limite de detecção. ....	61
<b>Tabela 3.1</b> - Hg concentration values (ng.g-1) for different samples from the Upper Cretaceous Bauru Group .....	88
<b>Tabela 4.1</b> - Registro dos valores de HgT analisado em diferentes matrizes analíticas dos principais táxons de vertebrados fósseis encontrados no Grupo Bauru.....	119

# CAPÍTULO 1

**Contexto Geológico e Paleontológico do Grupo Bauru:**  
Proposta de estudo geoquímico em vertebrados fósseis

## **1. INTRODUÇÃO**

A presente Tese de Doutorado foi realizada no âmbito do Programa de Pós-graduação em Tecnologias Química e Biológica (PPGTQB) do Instituto de Química da Universidade de Brasília (IQ/UnB). De maneira geral, a temática da Tese foi inicialmente construída com o intuito de compreender, a partir de estudos geoquímicos em fósseis, relações interespecíficas entre organismos, e entre organismos e meio ambiente. Portanto, pretendeu-se com análises de Concentração de Mercúrio (Hg) em tecidos biomineralizados (ossos, dentes, placas dérmicas, cascas de ovos), obter informações que fossem significativas ao entendimento da posição trófica desses organismos em paleoecossistemas, mais especificamente: variação de dieta e interpretações sobre posição trófica.

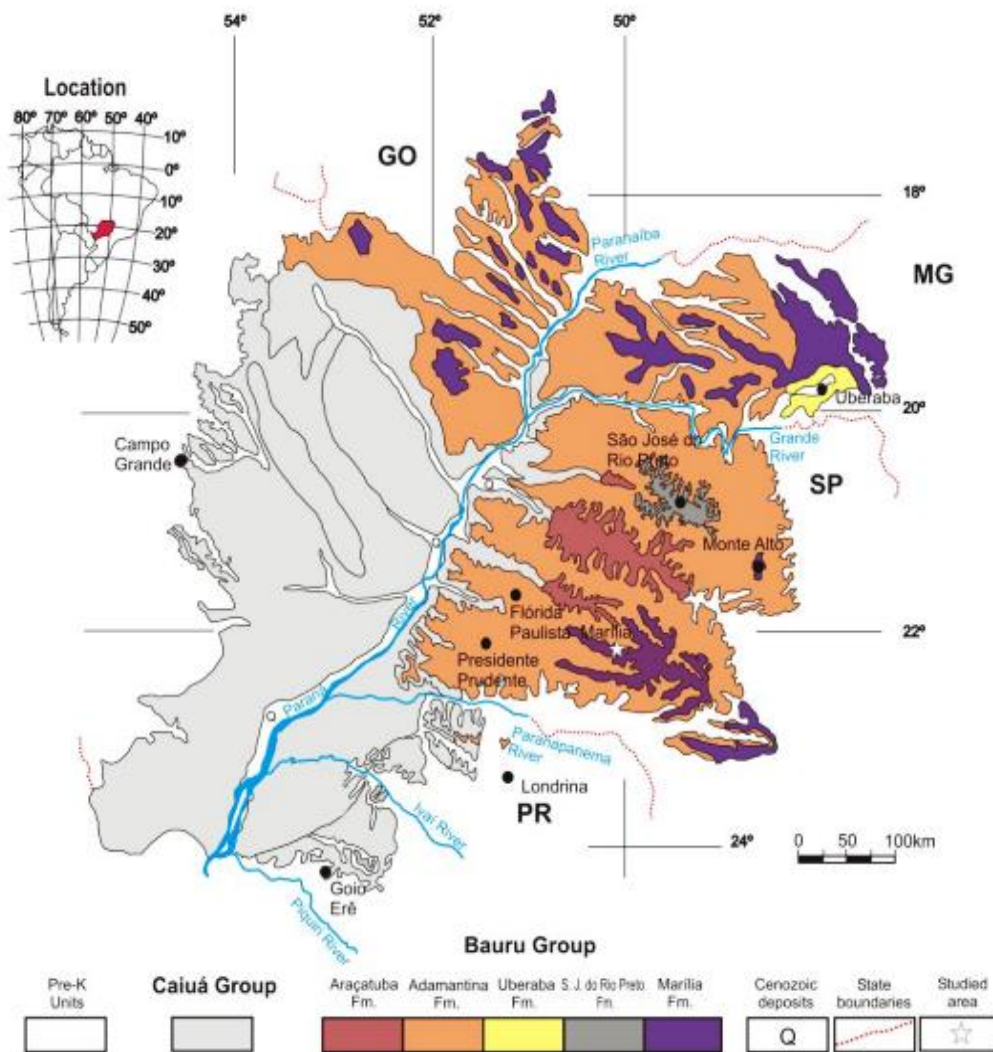
Ressaltamos que este estudo tem como escopo a proposição de metodologia de estudo, que em síntese, trata-se da aplicação de método analítico para determinação de Mercúrio Total (HgT) em fósseis, buscando contribuir ao entendimento, reconstrução e representação de toda uma dinâmica biogeoquímica em cenários pretéritos do Neocretáceo, no qual viviam os vertebrados do Grupo Bauru no Brasil.

### **1.1. O Contexto Geológico e Paleontológico do Grupo Bauru**

O Grupo Bauru (figura 1.1), local de estudo e coleta deste trabalho, é classificado como um dos registros geológicos mais bem documentados do Cretáceo Superior brasileiro (Batezelli et al., 2003), sendo definido por inúmeros autores como de importante potencial fossilífero do Cretáceo Superior continental.

De acordo com Dias-Brito et al. (2001) e Paula & Silva et al. (2003), trata-se de um conjunto litológico que apresenta associação de arenitos, carbonatos, siltitos, argilitos/folhelhos, depositados em diversos contextos paleoambientais, como eólicos, aluviais, fluviais e lacustres de pouca profundidade durante o Neocretáceo.

Conforme Fernandes & Coimbra (2000), esta unidade geológica é essencialmente formada pelo acúmulo de uma sequência sedimentar arenosa que se assentou sobre os basaltos da Formação Serra Geral (Cretáceo Inferior), hoje com espessura máxima de 300 m (figura 1.1).



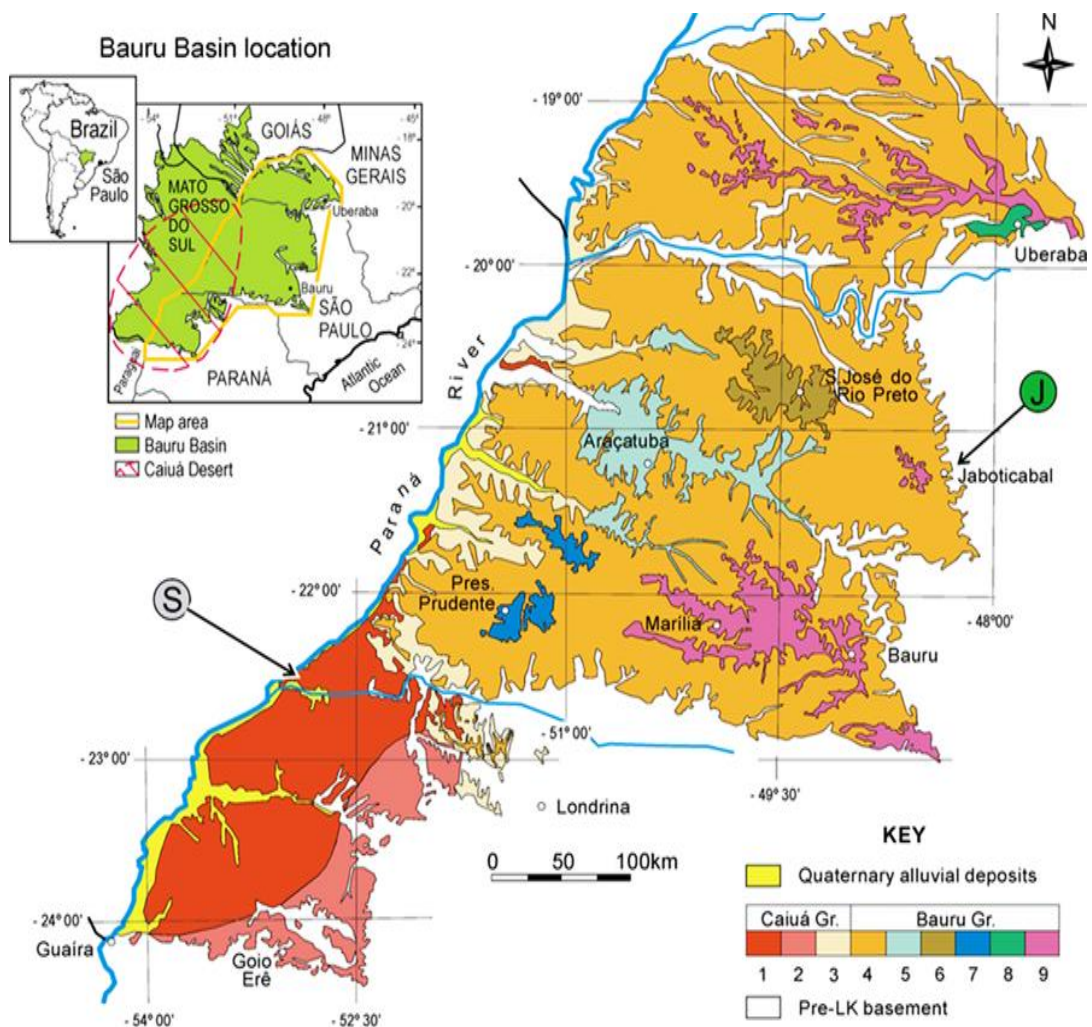
**Figura 1.1** - Mapa geológico da Bacia Bauru. Compilado de Fernandes (1998), Fernandes e Coimbra (1996).

Atualmente, o Grupo Bauru (Bacia Bauru) aflora entre as latitudes 18°S e 24°S e longitudes 47°W e 56°W, onde se distribui por uma área de cerca 370.000km<sup>2</sup> no interior do Brasil, na parte oriental dos estados de São Paulo, Mato Grosso, o noroeste do Paraná, o leste do Mato Grosso do Sul, o Triângulo Mineiro, o sul de Goiás e o nordeste do Paraná.

De forma igual à enormidade de trabalhos publicados sobre o Grupo Bauru, é a divergência na classificação de suas unidades estratigráficas. Nesse âmbito, Batezelli (2003) tem ressaltado que são vários os estudos que sugerem modificação na divisão estratigráfica da Bacia Bauru (designada por Entidade Geológica Neocretácea, Fernandes e Coimbra, 1996; Batezelli, 2003), onde se destacam propostas oriundas de pesquisas realizadas na década de 90 e anos 2000, a exemplo, os trabalhos de Fernandes

(1992 e 1998); Fulfaro et al. (1994); Fulfaro & Perinotto (1996); Ricomini (1997); Fernandes & Coimbra (1996 e 2000); Paula e Silva (2003); Batezelli (1998 e 2003).

Neste estudo entendemos a divisão estratigráfica dessa sequência neocretácea com base nas propostas de Soares et al. (1980); Batezelli (1998), Fernandes (1992), Paula e Silva (2003), mas principalmente, tomamos as contribuições de Fernandes & Coimbra (1996, 2000) ao propor a divisão da Bacia Bauru em dois grupos: **Bauru** (formações Araçatuba, Adamantina (Vale Rio do Peixe), Presidente Prudente, São José do Rio Preto, Uberaba e Marília) e **Caiuá** (formações Rio Paraná, Goio Erê e Santo Anastácio) e ainda a subdivisão da Formação Marília nos membros Echaporã, Serra da Galga e Ponte Alta (Barcelos & Suguio 1987), como observado na Figura 1.2.

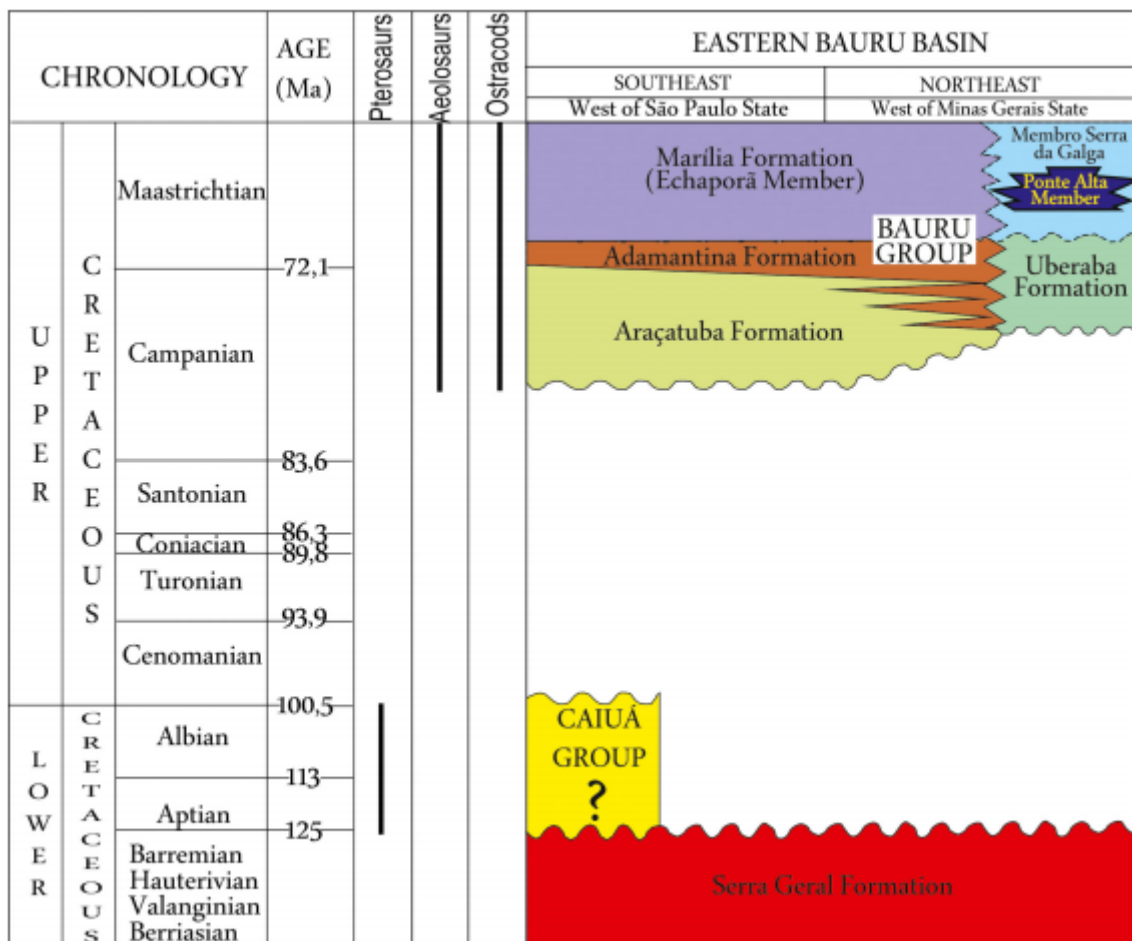


**Figura 1.2** - Mapa litoestratigráfico da Bacia Bauru, com ênfase na região oriental. Retirado de Fernandes et al. (2004).

Com relação à formação da Bacia Bauru, esta teve seu desenvolvimento relacionado à dinâmica de eventos tectônicos e magmáticos que ocorreram durante a

ruptura da Gondwana, mais especificamente, em evento de compensação isostática posterior ao acúmulo de aproximadamente 2.000 m de lavas basálticas, fenômeno ocorrido no Neocretáceo. (Dias-Brito et al., 2001; Fernandes & Coimbra, 2000; Fulfaro e Perinotto, 1996; Fernandes, 2007; Azevedo, 2012).

Posteriormente ao substrato basáltico formado, com o clima sugerido de semiárido a árido, ocorre o preenchimento da Bacia Bauru pelo acúmulo de sequência sedimentar essencialmente arenosa, fenômeno que acontece entre o Coniaciano e Maastrichtiano (Neocretáceo), ou seja, um intervalo de tempo conhecido com base na idade de dinossauros e dados bioestratigráficos de microfósseis (Lima et al., 1986, Bertini e Santucci, 2001), na idade absoluta de intercalações de rochas vulcânicas (Fernandes, 2000) e na correlação com a deposição da Formação de Santos (Azevedo, 2012) da Bacia de Santos, como observado na Figura 1.3.



**Figura 1.3** - Esquema cronoestratigráfico para os Grupos Baru e Caiuá, desenvolvido com base na integração de dados paleontológicos, estratigráficos e na correlação de eventos vulcânicos e magmáticos nas porções norte e nordeste da Bacia Bauru. Modificado de Batezelli (2017).

Logo, a unidade Bauru é considerada por vários autores como grande produtora de biota fóssil do Neocretáceo, tendo seu reconhecimento paleontológico ligado a



achados fósseis que ocorrem desde o final do século XIX. Contribuem para isso, os estudos de von Ihenring (1913), registrando um dente de *Crocodylomorpha* e, posteriormente, a partir de 1945, o trabalho de Llewellyn Ivor Price na Formação Marília da região do Triângulo Mineiro, no qual foram registrados muitos fragmentos fósseis, aumentando significativamente o número de espécies conhecidas no Grupo Bauru (Candeiro et al., 2006).

Atualmente, a maior parte do importante conteúdo fossilífero da Bacia Bauru é proveniente da Formação Adamantina e corresponde a organismos terrestres e aquáticos, como: algas carófitas, icnofósseis, moluscos, conchostráceos, peixes, quelônios, crocodilianos e dinossauros (Azevedo, 2012; Ghilard et al., 2010).

Nesse contexto, Geroto & Bertini (2014) consideram a Formação Adamantina como a sequência mais conhecida de depósitos sedimentares do Cretáceo Superior do sudeste do Brasil e afirmam que durante os últimos 20 anos, esta área tem sido importante para a escavação e estudo de vertebrados fósseis, aumentando o conhecimento sobre os depósitos e respectivos fósseis. Ainda, os autores reforçam que a paleofauna cretácea do Sudeste do Brasil tem sido retratada anteriormente por vários autores (Bertini, 1993; Bertini et al. 1997; Franco & Bertini, 1997; Andrade, 2002; Andrade & Bertini, 2008) e que recentemente novas localidades com material fóssil foram encontradas, onde elementos completos são escassos, prevalecendo registros fragmentados, porém em boa conservação.

Os principais grupos de vertebrados fósseis encontrados e estudados pertencem aos táxons: Testudines, *Crocodylomorpha* e Dinosauria (Theropoda e Sauropoda). De maneira geral, os materiais são amostrados como fragmentos de carapaças e plastrões para Testudines; dentes isolados para Crocodiliformes (*Baurusuchidae*, *Sphagesauridae*, *Itasuchus*) bem como para Maniraptora; além de restos apendiculares para Titanosauria (Geroto, 2010; Geroto e Bertini, 2012).

De acordo com Candeiro (2010), nas últimas décadas, um grande número de fósseis bem preservados de invertebrados e vertebrados foram recuperados das Formações Adamantina e Marília, mas apesar disso, o conhecimento da biota cretácea ainda está longe de ser completo, sendo necessário para satisfazer essas lacunas de conhecimento paleontológico, um fluxo maior e diversificado de pesquisas nessa região.

Diante da afirmativa anterior, consideramos que o objeto de estudo dessa pesquisa, de um modo geral, pode ser exemplificado pela análise geoquímica (i.e.

Isótopos Estáveis e Mercúrio Total) de fragmentos de vertebrados fósseis que são encontrados em significativa abundância na Bacia Bauru.

Em síntese, estudos com isótopos estáveis, como  $^{13}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}$ , se fundamentam na premissa de que os elementos químicos que compõem a bioapatita dos ossos, dentes e placa dérmica dos vertebrados, são provenientes da água e comida que ingerem, assim como do ar que respiram (Ambrose, 1997; Kelly, 2000, Straight et al., 2004).

Logo, estudos dos processos de fracionamento e determinação da razão isotópica nesses materiais são fundamentais à discriminação e reconstrução de condições ambientais pretéritas em que esses animais estavam inseridos, a exemplo, condições climáticas e suas mudanças, interações ecológicas, variação de habitats, comportamento e fisiologia (Fricke, 2007).

Já os estudos que versam sobre a determinação da concentração de Mercúrio, se baseiam no fato de que o mesmo sofre bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia trófica, ou seja, uma vez que este elemento entra no organismo, grande quantidade será magnificada ao longo da cadeia trófica (Wiener et al., 2003). Por exemplo, um peixe que contém certa quantidade deste metal em seu corpo, passará toda essa quantidade para seu predador que, por sua vez, amplificará essa quantidade de mercúrio em aproximadamente uma ordem de magnitude.

Deste modo, comparando a quantidade de mercúrio presente no sedimento (de origem natural) com a quantidade de mercúrio presente nos fósseis, é possível estimar qual a posição do fóssil estudado na cadeia trófica e minimamente inferir seus hábitos alimentares. Ainda, alguns estudos mais recentes, como Rasmussen et al. (2013), reportam a presença de mercúrio em ossadas de humanos do século XI, mostrando ser possível a acumulação desse elemento em tecidos biomineralizados.

## **1.2. JUSTIFICATIVA**

Apesar de uma grande quantidade de trabalhos ressaltarem a importância dos vertebrados fósseis da Bacia Bauru e a necessidade da proposição de novos estudos com essa temática, prevalece o entendimento e a representação dos paleoecossistemas brasileiros por informações que têm origem essencialmente em técnicas de análise em descrição morfológica, anatomia comparada, estratigrafia e sedimentologia. Uma vez que estudos de elementos-traço estão ganhando cada vez mais espaço na paleontologia,

a pesquisa aqui proposta é inovadora ao determinar a concentração de mercúrio total (HgT) em fósseis de vertebrados.

Deste modo, as técnicas analíticas aqui empregadas fornecem evidências importantes e quantificáveis para a determinação da posição trófica dos fósseis estudados, contribuindo para o melhor entendimento da história de vida e das relações ecológicas destes animais em seus paleoecossistemas.

Ainda, informações ecológicas como alterações de ciclos biogeoquímicos de elementos essenciais e pesados por eventos climáticos e as suas implicações na biota pretérita certamente são relevantes ao justificar o desenvolvimento desta pesquisa.

### **1.3. HIPÓTESE DE TRABALHO**

#### **1.3.1. Primeira Hipótese**

Fósseis, através de seus tecidos biomineralizados (ossos, dentes, placas dérmicas), são capazes de preservar o metal Mercúrio (Hg) em diferentes concentrações, possibilitando o posicionamento dos espécimes estudados em diferentes níveis tróficos, além de evidenciar quantitativamente fenômenos de Bioacumulação e Biomagnificação trófica em paleoecossistemas.

#### **1.3.2. Segunda Hipótese**

O elemento Mercúrio (Hg) quando associado ao enxofre que compõe o grupo das sulfidrilas de aminoácidos, é capaz, ao longo do tempo, de resistir preservado e aprisionado em tecidos biomineralizados de fósseis na forma do mineral Cinábrio (HgS), fenômeno que indisponibiliza esse elemento a participar da dinâmica de seu ciclo ou, alternativamente, o Hg pode entrar no retículo cristalino da hidroxiapatita substituindo elementos de mesma carga e raio atômico semelhante, no caso, o cálcio (Ca).

## **1.4. OBJETIVOS**

### **1.4.1. Objetivo Geral**

A presente Tese tem como objetivo essencial investigar relações interespecíficas entre organismos e entre organismos e ambiente a partir de análises geoquímicas em espécimes fósseis do Grupo Bauru, bem como desenvolver metodologia de estudo a fim de analisar concentração de Mercúrio (Hg) em seus tecidos biomineralizados.

Para a realização dessa pesquisa, utilizou-se como ferramenta a espectroscopia de massa para análise geoquímica de isótopos estáveis e espectroscopia de absorção atômica Zeeman para determinação de Hg total, que somadas às incursões de campo, contribuíram com a obtenção de informações fundamentais ao melhor entendimento e representação da dinâmica biogeoquímica de paleoambientes em que viviam os vertebrados do Grupo Bauru.

### **1.4.2. Objetivos Específicos**

Desenvolver metodologia para estudo e determinação de Hg total em tecidos biomineralizados (dentes, ossos, placas dérmicas, escama e casca de ovo) dos espécimes fósseis coletados.

Investigar a dinâmica do Hg em paleoecossistemas do Grupo Bauru, entendendo como este metal é absorvido, preservado e se existem alterações diagenéticas nos analitos de amostras capazes de influenciar essas interpretações.

Determinar a concentração de Hg nos seguintes táxons: peixes (Lepisosteiformes), Testudines, Crocodylomorpha (Baurusuchidae, Sphagesauridae, *Mariliasuchus*, *Itasuchus* e Peirosauridae), Dinosauria (Titanosauria e Abelisauroidea) e aves.

Definir as razões de Isótopos Estáveis para Carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e Oxigênio ( $\delta^{18}\text{O}$ ) para crocodyliformes Baurusuchidae para estudos de comportamento alimentar e temperatura corporal.

## 1.5. MATERIAIS E MÉTODOS

Para realização deste trabalho foram utilizados fósseis coletados nas formações Adamantina, Uberaba e Marília do Grupo Bauru. Majoritariamente seriam utilizados apenas dentes e escamas de peixes, pois são estruturas que, devido ao arranjo cristalino mais fechado da bioapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ , sofrem menos influência de contaminação diagenética (Fricke & Rogers, 2000; Amiot et al., 2006). No entanto, estudos prévios aqui realizados com crocodiliformes baurusuquídeos, asseguram que tecidos biomineralizados como ossos possuem uma boa capacidade de preservação de Hg e apresentam valores similares à matriz analítica de dentes, sendo, portanto, adotados como material analítico nesta pesquisa. Também foram analisados materiais referentes à placa dérmica e ovos para crocodiliformes e sedimentos das formações em que foram coletados os fósseis.

Além de serem coletadas amostras nas cidades de Fernandópolis, Jales (Formação Adamantina) e Marília (Formação Marília), os materiais também foram cedidos pelas coleções da Faculdade UnB Planaltina-DF, Museu de Paleontologia de Marília-SP, Museu de Paleontologia de Monte Alto-SP, Fundação Educacional de Fernandópolis SP, Universidade de São Paulo, USP-Ribeirão Preto e Centro de Pesquisas Paleontológicas L. I. Price-MG. Os táxons estudados são compostos por peixes (Lepisosteiformes), testudinos, Crocodylomorpha (Baurusuchidae, Sphagesauridae, *Mariliasuchus*, *Itasuchus*, *Pissarachampsa*, *Montealtosuchus*, *Morrinhosuchus*, *Adamantinasuchus*), Dinosauria (saurópodos e terópodos) e aves.

A metodologia adotada consiste na determinação de Mercúrio Total (HgT) em fósseis e sedimentos por espectrometria de absorção atômica Zeeman. Os materiais utilizados foram:

- Caneta pneumática (para limpeza e remoção de sedimentos do material fóssil)
- Analizador Zeeman Portátil de Mercúrio RA915+ com módulo PYRO915+ da Ohio Luméx®.
- Padrão de mercúrio 1000µg/ml da marca Aldrich Chemical Company. Inc
- Material volumétrico calibrado
- Micropipetas (100 a 1000µL e 10 a 100µL) da marca Brand® e HTL®
- Material Padrão (cinza de osso) 1400 NIST

A utilização do Analizador Zeeman Mercúrio e os procedimentos analíticos foram estabelecidos nas condições de 60 minutos como tempo de pré-aquecimento do pirolizador, temperatura usual de 800°C (módulo 1), tempo de análise de 60 segundos e volume de injeção de 200µL de solução para construção de curva de calibração. A curva analítica foi construída a fim de correlacionar o sinal de absorvância com as quantidades conhecidas de mercúrio (soluções de trabalho para a faixa de 1 a 60 ng.g<sup>-1</sup> de Hg) por meio da diluição de uma solução padrão de mercúrio de concentração de 1000µg/ml. O desempenho da metodologia (WHO, 1992; US-FDA, 2000; Eurachem Working Group, 1998; INMETRO, 2017) foi testado quanto aos parâmetros analíticos de curva analítica, faixa de trabalho, linearidade, limite de detecção, exatidão e precisão.

As análises de Isótopos Estáveis foram exclusivamente realizadas no esmalte dos dentes dos táxons baurusuquídeos, sphagessaurídeos, titanossaurídeos e Abelissaurídeos para os elementos  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{84}\text{Sr}$ . Também foi realizada uma análise adicional de  $\delta^{34}\text{S}$  para comparar razões entre a dentina dentária e sedimento circundante, a fim de verificar a contaminação diagenética pelas diferenças dos valores de enxofre enriquecido em sulfetos de mercúrio no sedimento e hipoteticamente formados no fóssil. As medidas para razão isotópicas foram realizadas no laboratório de Geocronologia da Universidade de Brasília (UnB), sendo utilizado para isótopos estáveis de  $^{13}\text{C}$  e  $^{18}\text{O}$  o espectrômetro de massa de fonte gasosa Delta5 Plus com auto-sampler e para  $^{84}\text{Sr}$  o espectrômetro termo-iônico TIMS Finnigan MAT-264.

## 1.6. A ESTRUTURA DA TESE

A presente Tese, apesar de ser organizada em dois capítulos iniciais, tem o seu desenvolvimento estruturado em artigos científicos que foram submetidos a revistas internacionais indexadas. Objetiva-se desta maneira proporcionar a difusão e divulgação do conhecimento científico, além de satisfazer as diretrizes propostas pelos programas de pós-graduação do Brasil.

Os capítulos iniciais promovem a apresentação e a fundamentação teórica da Tese e são simplificadaamente descritos da seguinte maneira: O **primeiro capítulo** introduz o leitor ao problema de pesquisa e apresenta a contextualização dos objetivos nos aspectos geológicos e paleontológicos do Grupo Bauru; local de estudo e coleta

desta pesquisa. Nesse contexto, é justificada a importância deste trabalho para a paleontologia e estudos de monitoramento ambiental.

No **capítulo 2**, a fundamentação teórica da pesquisa é desenvolvida em dois tópicos essenciais: a Geoquímica de Isótopos Estáveis e o Ciclo do Mercúrio. Aqui o estado da arte é descrito e discutido diante das potencialidades e limitações que as técnicas analíticas no domínio da geoquímica possam apresentar perante estudos em fósseis.

No **capítulo 3**, o artigo “**Mercury concentrations in terrestrial fossil vertebrates from the Bauru Group (Upper Cretaceous), Brazil and its use in vertebrate paleontology**” apresenta dados sobre a contaminação natural de Hg em fósseis de crocodiliformes em paleoecossistemas cretáceos. Uma nova metodologia para estudos paleontológicos é apresentada. O mesmo capítulo já se encontra aceito no periódico internacional *Journal of South American Earth Sciences*.

No **capítulo 4**, um compilado de análises realizadas com espécimes dos principais táxons de vertebrados coletados nas formações de Adamantina, Uberaba e Marília do Grupo Bauru são usadas para a reconstrução de relações ecológicas em paleoecossistemas. Informações sobre posição trófica de espécimes em paleoecossistemas, Bioacumulação e Biomagnificação trófica de Hg são discutidas.

A conclusão deste trabalho é apresentada no **capítulo 5**, tratando-se não apenas de um resumo dos principais resultados, interpretações e perspectivas futuras, mas o fechamento de uma ideia, mutável em sua essência e métodos conforme os fatos desenterrados.

## 1.7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, M.B., Bertini, R.J., 2008. Morphological and anatomical observations about *Mariliasuchus amarali* and *Notosuchus terrestris* (Mesoeucrocodylia) and their relationships with other South-american notosuchians. *Arq. do Mus. Nac.* 66, 5–62.
- Andrade, L.R.M, SP., 2002. Levantamentos litofaciológico e paleobiológico, com interpretações paleoecológicas, em sedimentos da Bacia Bauru - Cretáceo Superior, ao longo da Rodovia SP 294, entre as cidades de Adamantina e Dracena. *Instit. de Geociências e Ciências Exatas, Rio Claro, Trabalho de Conclusão de Curso*, 105 pp
- Allègre, C.J., 2008. Isotope geology. doi:10.1017/CBO9780511809323
- Azevedo, K. L. Curitiba, 2012. Aspectos tafonômicos de vertebrados da parte oriental do Grupo Bauru, Cretáceo Superior. Universidade Federal do Paraná.
- Amiot, R., Lécuyer, C., Buffetaut, E., Escarguel, G., Fluteau, F., Martineau, F., 2006. Oxygen isotopes from biogenic apatites suggest widespread endothermy in Cretaceous dinosaurs. *Earth Planet. Sci. Lett.* 246, 41–54. doi:10.1016/j.epsl.2006.04.018
- Bastos, M.Q.R. Brasília., 2014. Dos Sambaquis do sul do Brasil à diáspora africana: estudos de geoquímica isotópica de séries esqueléticas humanas escavadas de sítios arqueológicos brasileiros. Tese (Doutorado em Geociências) – Instituto de Geociências, Universidade de Brasília.
- Barcelos, J.H. & Suguio, K. 1987. Correlação e extensão das unidades litoestratigráficas do Grupo Bauru definida em território paulista, nos estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul e Paraná. In: SBG/Núcleo SP, Simpósio Regional de Geologia, 6, RipClarp, Atas, 1:313-321.
- Batezelli, A., Perinotto, J.A. de J., Etchebehere, M.L.C., Fulfaro, V.J., Saad Antonio, R., 1999. Redefinicao litoestratigrafica da Unidade Araçatuba e da sua extensao regional na Bacia Bauru, Estado de Sao Paulo, Brasil, in: Boletim Do Simpósio Sobre O Cretáceo Do Brasil, 5. pp. 195–200.



- Batezelli, A., Saad, A.R., Etchebehere, M.L.C., Perinotto, J.A.J., Fulfaro, V.J., 2003. Análise estratigráfica aplicada à formação Araçatuba (Grupo Bauru – KS) no Centro-Oeste do estado de São Paulo. *Geociências UNESP* 22, 5–19.
- Batezelli, A. Rio Claro, 2003. Análise da sedimentação cretácea no Triângulo Mineiro e sua correlação com áreas adjacentes. Tese (Doutorado em Geociências) – Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista., 183 p.
- Batezelli, A., 2017. Continental systems tracts of the Brazilian Cretaceous Bauru Basin and their relationship with the tectonic and climatic evolution of South America. *Basin Res.* 29, 1–25. doi:10.1111/bre.12128
- Bertini, R.J. Rio de Janeiro, 1993. Paleobiologia do Grupo Bauru, Cretáceo Superior continental da Bacia do Paraná, com ênfase em sua fauna de amniotas. Instituto de Geociências, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Tese de Doutorado, 493 p.
- Bertini, R.J.; Franco, A.C.; Toledo, C.E.; Arruda-Campos, A.C. 1997. Theropod teeth from Adamantina Formation, Upper Cretaceous of São Paulo State. Analysis of the dental morphology. In: SBP, CONGRESSO BRASILEIRO DE PALEONTOLOGIA, 15, São Pedro, Boletim de Resumos, p. 103.
- Candeiro, C.R.A., Martinelli, A.G., Avilla, L.S., Rich, T.H., 2006. Tetrapods from the Upper Cretaceous (Turonian-Maastrichtian) Bauru Group of Brazil: a reappraisal. *Cretac. Res.* 27, 923–946. doi:10.1016/j.cretres.2006.05.002
- Criss, R.E., 1999. Principles of stable isotope distribution, Oxford University Press, Inc.
- Dias-Brito, D., Musacchio, E.A., Castro, J.C., Maranhão, M.S.A.S., Suárez, J.M., Rodrigues, R., 2001. Grupo Bauru: Uma unidade continental do Cretáceo no Brasil - Concepções baseadas em dados micropaleontológicos, isotópicos e estratigráficos. *Rev. Paleobiol.* 20, 245–304.
- Eurachem, 1998. The Fitness for Purpose of Analytical Methods, Eurachem Guide, ISBN: 0-94948926-12-0. doi:978-91-87461-59-0
- FDA, F. and D.A., Food and Drug Administration, 2001. Guidance for Industry: Bioanalytical method validation., U.S. Department of Health and Human Services

doi:<http://www.labcompliance.de/documents/FDA/FDA-Others/Laboratory/f-507-bioanalytical-4252fnl.pdf>

- Fernandes, L.A., SP., 1992. A cobertura cretácea suprabasáltica no Estado do Paraná e Pontal do Paranapanema (SP): os Grupos Bauru e Caiuá. Dissertação (Mestrado em Geociências) - Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo, 171.
- Fernandes, L.A., Coimbra, A.M., 1996. A Bacia Bauru (Cretáceo Superior, Brasil). *An. Acad. Bras. Cienc.* 68, 194–205.
- Fernandes, L.A., SP., 1998. Estratigrafia e evolução geológica da parte oriental da Bacia Bauru (Ks, Brasil). Tese (Doutorado em Geociências) - Programa de Pós-Graduação em Geologia Sedimentar, Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo. 216 p.
- Fernandes, L.A. & Coimbra, A.M., 2003. A Bacia Bauru São Paulo, UNESP, *Geociências* 22, N. Especial, 5-19, (Cretáceo Superior, Brasil). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 68, 2, 195-205, 1996.
- Fernandes, L.A., Coimbra, A.M., 2000. Revisão estratigráfica da parte oriental da bacia Bauru (Neocretáceo). *Rev. Bras. Geociências* 30, 717–728.
- Franco, A.C.; Bertini, R.J. 1997. Structure and ultra-structure of the dental morphology in theropodomorphs dinosaurs (Saurischia: Reptilia). Utility to taxonomy. In: Meeting of the Brazilian Society for Electron Microscopy, 16, Caxambu, Proceedings, 688-689
- Fricke, H., 2007. Stable isotope geochemistry of bonebed fossils: reconstructing paleoenvironments, and paleobiology, in: *Bonebeds: Genesis, Analysis, and Paleobiological Significance.* p. 499. doi:10.7208/chicago/9780226723730.001.0001
- Fricke, H.C., Rogers, R.R., 2000. Multiple taxon-multiple locality approach to providing oxygen isotope evidence for warm-blooded theropod dinosaurs. *Geology* 28, 799–802. doi:10.1130/0091-7613(2000)28<799:MTLATP>2.0.CO

- Fulfaro, V.J., Perinotto, J.A.J., Barcelos, J.H., 1994. A margem goiana do Grupo Bauru: implicações na litoestratigrafia e paleogeografia, in: 3o Simpósio Sobre O Cretáceo Do Brasil. pp. 81–84.
- Fulfaro, V.J. & Perinoto, J.A. de J., Águas de São Pedro., 1996. A Bacia Bauru: estado da Arte. In: SIMPÓSIO SOBRE O CRETÁCEO DO BRASIL, 4, Boletim. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista. 297-303.
- Geroto, C.F.C., Bertini, R.J., 2012. Descrição de um espécime juvenil de Baurusuchidae (Crocodyliformes: Mesoeucrocodylia) do Grupo Bauru (Neocretáceo): considerações preliminares sobre ontogenia. 1. Rev. do Inst. Geológico 33, 13–29. doi:10.5935/0100-929X.20120007
- Geroto, C.F.C. & Bertini., SP., 2014. R.J. New records of fóssil vertebrate from the upper cretaceous Adamantina formation (Bauru Group) southeastern Brazil. Revista do Instituto Geológico, 35 (2), 39-56.
- Geroto, C.F.C., SP., 2010. Revisão histórica, prospecção e levantamento dos fósseis de vertebrados, especialmente titanossauros, nas regiões fossilíferas entre Lucélia e Irapuru (Grupo Bauru, Formação Adamantina), sudoeste do estado de São Paulo. 193 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Geociências e Ciências Exatas, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/92898>>.
- Ghilard, R., Carbonaro, F., Simone, L., SP., 2010. *Physa mezzalirai*: um novo gastrópode da Formação Adamantina (Bacia Bauru), Cretáceo Superior. Gaea - Journal of Geoscience.
- Goldberg, K., Garcia, A.J.V., 2000. Palaeobiogeography of the Bauru Group, a dinosaur-bearing Cretaceous unit, northeastern Parana Basin, Brazil. Cretac. Res. 21, 241–254. doi:10.1006/cres.2000.0207
- Hoefs, J., 2009. Stable Isotope Geochemistry, Stable Isotope Geochemistry.
- Huene, F.von. 1939. Carta de F.von Huene ao Dr. Euzébio de Oliveira. Mineração e Metalurgia, 4(22), 1939: 190.

- INMETRO, 2007. Orientação Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos - DOQ-CGCRE-008. Inst. Nac. Metrol. e Norm. e Qual. Ind. 25.
- Lima, M.R.D., Mezzalana, S., Dino, R., Saad, A.R., 1986. Descoberta de microflora em sedimentos do Grupo Bauru, Cretáceo do Estado de São Paulo. Rev. do Inst. Geológico 7, 5–9. doi:10.5935/0100-929X.19860001
- Paula e Silva, F., Kiang, C.H., Caetano-Chang, M.R., 2003. Perfis de referência do Grupo Bauru (K) no Estado de São Paulo. Geociências UNESP 22, 21–32. doi:10.4072/rbp.2004.3.07
- Price, L.I., 1950. On a new crocodilian *Sphagesaurus* from Cretaceous of the State of São Paulo, Brazil. Acadêmia Brasileiro de Ciências, Rio de Janeiro 22, n. 1.
- Rasmussen, K.L., Kučera, J., Skytte, L., Kameník, J., Havránek, V., Smolík, J., Velemínský, P., Lynnerup, N., Bruzek, J., Vellek, J., 2013. Was He Murdered Or Was He Not?-Part I: Analyses of Mercury in the Remains of Tycho Brahe. Archaeometry 55, 1187–1195. doi:10.1111/j.1475-4754.2012.00729.x
- Riccomini, C., 1997. Arcabouço estrutural e aspectos do tectonismo gerador e deformador da Bacia Bauru no Estado de São Paulo. Rev. Bras. Geociências 27, 153–162.
- Santucci, R.M., Bertini, R.J., 2006. A new titanosaur from western São Paulo State, Upper Cretaceous Bauru Group, South-east Brazil. Palaeontology 49, 59–66. doi:10.1111/j.1475-4983.2005.00527.x
- Santucci, R M; Bertini, R J., 2001. Distribuição paleogeográfica e biocronológica dos titanossauros (Saurischia, sauropoda) do Grupo Bauru, Cretáceo Superior do sudeste brasileiro. Revista Brasileira de Geociências 31, n. 3, 307– 314.
- Soares, P.C., Landim, P.M.B., Fúlfaro, V.J., Sobreiro Neto, A.F., 1980. Ensaio de caracterização estratigráfica do Cretáceo no Estado de São Paulo: Grupo Bauru. Rev. Bras. Geociências.
- Von Iheling, R., 1913. Fósseis de S. José do Rio Preto. Mus. Paulista 8, 141146.
- Wiener, J.G., Krabbenhoft, D.P., Heinz, G.H., and Scheuhammer, A.M., 2003, "Ecotoxicology of Mercury" Chapter 16 in Hoffman, D.J., B.A. Rattner, G.A.

Burton, Jr., and J. Cairns, Jr., eds., Handbook of Ecotoxicology, 2nd edition.:  
Boca Raton, Florida, CRC Press, p. 409-463.

## CAPÍTULO 2

### **Fundamentação Teórica:**

Geoquímica de isótopos estáveis e ciclo do mercúrio:  
possibilidades analíticas em fósseis do Grupo Bauru

## 2. ESTUDOS GEOQUÍMICOS

O termo “geoquímica” foi empregado primeira vez em 1838 pelo químico suíço-alemão Christian Friedrich Schönbein, ao designar o ramo da ciência que se utiliza das ferramentas da química para resolver problemas geológicos (White, 2013). Nesse contexto, vários autores seguiram a tendência de classificar esta como uma ciência meramente complementar a outras áreas de estudo. Contudo, pesquisadores, principalmente da área das Ciências da Terra, diante da complexidade dos fenômenos da natureza e das necessidades energéticas, industriais e econômicas, reconhecem a perspectiva interdisciplinar e a alta capacidade analítica dos métodos geoquímicos como fundamentais ao entendimento e resolução destes problemas, estabelecendo assim, uma ciência abrangente, com método próprio, capaz de tratar de variados assuntos complexos.

Albarède (2009) define em sua obra, a geoquímica como a área do conhecimento que se utiliza dos princípios da química para explicar os mecanismos que regulam o funcionamento, em tempo passado ou presente, dos principais sistemas geológicos, como o manto terrestre, a crosta, os oceanos e a atmosfera.

Nesse sentido, baseando-se no trabalho Mason e Moore (1982), é possível explicar uma definição mais diretiva para esta ciência, entendendo-a como o estudo da distribuição e migração dos elementos químicos e seus isótopos nas diversas partes do planeta, assim como nos corpos celestes. Logo, se utiliza das leis da química para compreender os processos que governam essa distribuição e migração.

Para Guedes (2012), a geoquímica corresponde ao método investigativo que dividiu a realidade em compartimentos, os quais perpassam do cosmo até as partes da Terra, do interior à superfície. Logo, esse autor compreende em Rodhe (2004) que todos esses compartimentos (Litosfera, Hidrosfera, Atmosfera e Biosfera) são agrupados e interconectados no ciclo geoquímico; que inclui uma fonte, um transporte e uma deposição do elemento químico nos diversos compartimentos.

Diante das conceituações expostas anteriormente a definir a geoquímica, ressalta-se o trabalho de Kvenvolden (2008) que ao retratar o objeto de estudo da geoquímica orgânica, uma especialização da ciência supracitada, acaba por concordar, fundamentar e justificar o tema e os métodos analíticos desta Tese. Para este autor,

trata-se do estudo da ocorrência, distribuição, composição e destino final da matéria orgânica em sedimentos e rochas ao longo da história da Terra.

Logo, sejam destinados ao estudo da matéria orgânica e sua incorporação na litosfera ou ao entendimento da dinâmica dos isótopos estáveis nos ecossistemas, os métodos geoquímicos, além de perpassarem escalas analíticas com ampla abrangência, do molecular e deste para o subatômico, no caso de isótopos, também são capazes de precisar suas análises em uma ampla faixa de tempo, até mesmo entre períodos geológicos.

Nesse contexto, o presente trabalho busca não apenas identificar e aferir e discutir a dinâmica biogeoquímica do mercúrio e isótopos estáveis nos ecossistemas cretáceos em que estavam inseridos os vertebrados do Grupo Bauru, mas trata-se de um veículo de monitoramento ambiental que através da análise em fósseis e sedimentos possibilita a comparação entre condições de ambientes pretéritos com os atuais e as implicações para a biota.

## **2.1. Geoquímica de Isótopos Estáveis**

Neste capítulo a importância da geoquímica isotópica para estudos paleontológicos com ênfase em vertebrados é discutida. A partir do método analítico de espectroscopia de massa (De Laeter et al., 2003), processos naturais de fracionamento isotópico em átomos estáveis de C, N, O e Sr são entendidos pela quantificação de informações, estas representadas por um valor de razão isotópico denominado delta ( $\delta$ ), expresso em per mil (‰) (Hoefs, 2009).

Diferentemente das análises isotópicas realizadas com seres vivos atuais que apresentam boa quantidade de tecidos e outros materiais disponíveis para este fim, estudos em fósseis contam apenas com materiais remanescentes da ação do tempo e diagênese, ou seja, partes mineralizadas como ossos e dentes no caso de vertebrados. Desta maneira, é importante considerar que análise de isótopos estáveis perpassa a condição de uma técnica auxiliar das linhas tradicionais de estudo em paleontologia, que são fundamentadas principalmente na descrição morfológica, anatomia comparada, estratigráfica e sedimentologia, mas trata-se de um ramo do conhecimento geoquímico aplicado e autônomo em sua capacidade analítica. Logo, sob um viés quantitativo e com boa relação em estudos multifatoriais, a análise de isótopos estáveis tem contribuído com temas de estudos que procuram entender a história de vida de animais pretéritos em



seus ecossistemas, discriminando dietas, habitats, padrões fisiológicos, assim como alterações em ciclos biogeoquímicos e suas implicações ecológicas. Como exemplo, o trabalho Straight et al. (2004) representa não apenas um estudo paleontológico com o escopo em fisiologia de termorregulação para terópodes, mas pode ser considerado como uma pesquisa de monitoramento ambiental envolvendo grandes escalas de tempo, uma vez que razão de isótopos estáveis de oxigênio ( $\delta^{18}\text{O}$ ) em dentes de fósseis de titanosaurídeos constroem inferências sobre temperatura, águas superficiais, taxa de umidade e evaporação. De forma correlata, Amiot et al. (2010) analisaram o  $\delta^{18}\text{O}$  em fósseis de espinossauros e obtiveram informações importantes, as quais evidenciam um comportamento semi-aquático e a especialização alimentar piscívora destes animais em seus paleoecossistemas. Em síntese, são inúmeras as aplicações em que as análises de isótopos estáveis possam ser submetidas a serviço do conhecimento científico, sendo ressaltada tanto a construção da história de vida de espécies extintas quanto a comparação das condições ambientais e climáticas entre ecossistemas pretéritos e atuais.

## 2.2. Isótopos Estáveis

Isótopos são átomos cujo núcleo contém o mesmo número de prótons (número atômico ( $Z$ )), mas um número diferente de nêutrons, isto é, são átomos de um mesmo elemento químico, porém com diferentes massas<sup>1</sup>. O termo isótopo tem origem do grego e significa “estarem em um mesmo lugar”, pois estes ocupam a mesma posição na tabela periódica (Hoefs, 2009).

As propriedades químicas dos isótopos são idênticas, pois representam átomos de um mesmo elemento químico. No entanto, suas propriedades físicas (densidade, ponto de fusão, ligações com outros elementos) são divergentes, uma vez que dependem da massa, que é diferente em cada isótopo (Allégre, 2008; Rodrigues, 2013).

Outro aspecto relevante é a composição relativa de isótopos de um mesmo elemento químico, possível de variação, cada elemento apresenta um isótopo mais

---

<sup>1</sup> Considera-se a representação de isótopos na forma  ${}_Z\text{E}^A$ , onde o superíndice  $A$  denota o número de massa (isto é, a soma do número de prótons ( $p$ ) e nêutrons ( $n$ ) no Núcleo) e o subscrito  $Z$  denota o número atômico de um elemento,  $E$ . Por exemplo,  ${}_6\text{C}^{12}$  é o isótopo de carbono que tem 6 prótons e 6 nêutrons em seu núcleo. O peso atômico de cada elemento natural é a média de pesos contribuídos pelos seus vários isótopos. (Hoefs, 2009, p1-2).

abundante, leve ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{14}\text{N}$ ) e um ou mais isótopos pesados ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) com abundância menor que 1% (Hoefs, 2004, 2009).

É importante considerar que essa composição relativa de isótopos de um mesmo elemento químico, deve ser entendida como produto dos diferentes processos de fracionamento, os quais culminam com o enriquecimento ou empobrecimento da amostra no isótopo menos abundante (isótopo pesado).

Portanto, com base em Peterson & Fry (1987), Allégre (2008), Dalson & Siegwolf (2007), a composição isotópica do elemento é determinada pela razão entre o isótopo mais pesado e o mais leve e a sua comparação a um padrão ou material de referência (eq. 1). Logo, os valores afirmados corroboram ao entendimento de inúmeros fenômenos, nos quais estes processos de fracionamento estão contidos em sua dinâmica, como por exemplo, o fracionamento natural por trocas isotópicas entre oxigênio presente no vapor d'água de uma nuvem e nos pingos de chuva liberados pela nuvem ou o fenômeno da fotossíntese que fraciona o  $^{13}\text{C}$  a partir da seleção de moléculas de carbono mais leves,  $^{12}\text{C}$ , as quais vibram mais facilmente e assumem um menor gasto energético.

$$\delta = \left( \frac{R \text{ amostra}^a - R \text{ padrão}^b}{R \text{ padrão}} \right) \times 10^3$$

**Equação 1** - Descrição da determinação da razão isotópica entre as abundâncias do isótopo mais leve e o mais pesado na amostra, sendo estes, comparado a um valor padrão. O ( $\delta$ ) representa o valor da razão isotópica; o (a) razão da amostra e em (b) o valor da razão do material padrão, sendo expresso em per mil (‰). Fonte: Adaptado de Allégre (2008). Para o exemplo do fracionamento da fotossíntese supracitado acima equaciona-se:

$$\delta = \left( \frac{{}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ amostra} - {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ padrão}}{{}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C} \text{ amostra}} \right)$$

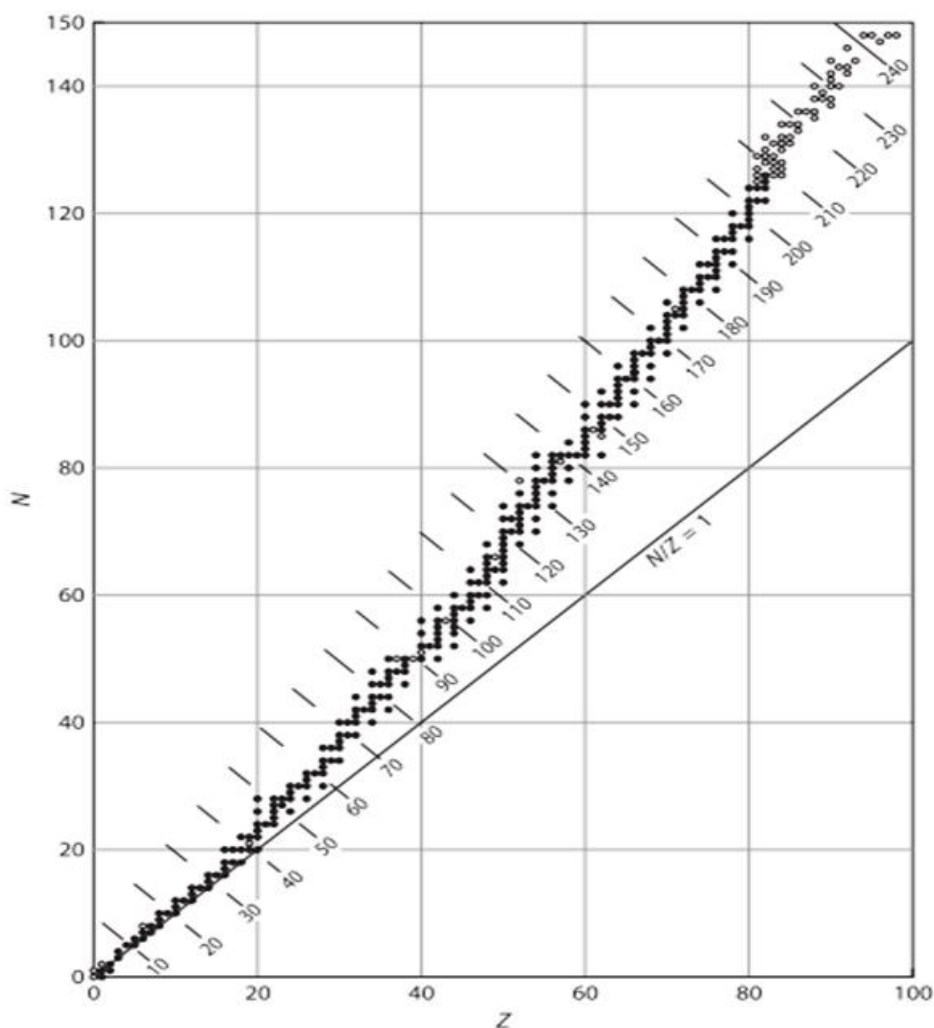
Onde, o valor de Delta representa o enriquecimento ou empobrecimento da abundância do isótopo pesado na amostra, o que desta maneira possibilita diversas interpretações dos processos de fracionamento no contexto dos fenômenos.

Observa-se na Tabela 2.1 a descrição e exemplificação dos principais isótopos estudados nesta pesquisa, ressaltando a abundância, razão isotópica e material padrão de referência.

**Tabela 2.1.** - Descrição das principais razões isotópicas e material de referência para Isótopos Estáveis. Retirado de Dalson (2007).

Elemento	Isótopo	Abundância	Razão mensurada	Padrão de Referência
Hidrogênio	$^1\text{H}$	99.984	$^2\text{H}/^1\text{H}$ (D/H)	VSMOW <sup>a</sup>
	$^2\text{H}$ (D) <sup>b</sup>	0.0156		
Carbono	$^{12}\text{C}$	98.982	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$	PDB <sup>c</sup>
	$^{13}\text{C}$	1.108		
Nitrogênio	$^{14}\text{N}$	99.630	$^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$	$\text{N}_2$ -atm <sup>d</sup>
	$^{15}\text{N}$	0.366		
Oxigênio	$^{16}\text{O}$	99.630	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$	VSMOW PDB <sup>e</sup> ,
	$^{17}\text{O}$	0.0375	$^{18}\text{O}/^{17}\text{O}$ <sup>f</sup>	VSMOW
	$^{18}\text{O}$	0.1995		
Enxofre	$^{32}\text{S}$	95.02	$^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$	CDT <sup>g</sup>
	$^{33}\text{S}$	0.756		
	$^{34}\text{S}$	4.210		
	$^{36}\text{S}$	0.014		
Estrôncio	$^{84}\text{Sr}$	0.560	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$	NBS-987 <sup>h</sup>
	$^{86}\text{Sr}$			
	$^{87}\text{Sr}$			
	$^{88}\text{Sr}$			

Uma questão relevante a ser considerada na dinâmica isotópica, principalmente por sua relação com processos de fracionamento, é a da relação de estabilidade ou instabilidade no núcleo atômico e, conseqüentemente, da gênese isotópica. Hoefs (2009) define e discute esse problema em duas regras básicas: a primeira chamada de regra da simetria, considera que em um núcleo estável com baixo número atômico (z), o número de prótons (p) é aproximadamente igual ao de nêutrons (n) onde a relação n/z é igual à unidade. Diferentemente do que ocorre em elementos com número atômico superior a 20, onde a razão n/z tende a ser maior que a unidade, com o valor máximo de 1,5 para núcleos estáveis mais pesados (Figura 2.1). Logo, para este autor, a repulsão eletrostática de Coulomb cresce rapidamente conforme o aumento do número atômico (z) dos elementos, e que para manter a estabilidade nos núcleos são incorporados nêutrons, diminuindo assim, a repulsão eletrostática nuclear.



**Figura 2.1** - Números de Prótons (Z) e nêutrons (N) de isótopos estáveis em círculos fechados e de instáveis de círculos abertos. (Hoefs 2009). Observe que a partir no número atômico 20 a repulsão eletrostática aumenta conforme cresce o número atômico, corroborando com o aumento na instabilidade da unidade e na perda da “simetria” na relação N/Z.

Já a segunda regra exposta por este autor, chamada de regra Oddo-Harkins, estabelece que os nuclídeos (combinação entre Z e N) de números pares, são mais abundantes do que aqueles com números ímpares, ou seja, a maior frequência de combinação par está diretamente relacionada a uma maior estabilidade nuclear (Tabela 2.2).

**Tabela 2.2** - Diferentes combinações entre prótons e nêutrons de números pares e ímpares que ocorrem nos nuclídeos. Destaque para o maior aparecimento de combinações Par-Par. (Hoefs, 2009).

Z-N combinação	Número de nuclídeos estáveis
Par-par	160
Par-ímpar	56
Ímpar-Par 50	50
Ímpar-ímpar	5

De acordo com Hoefs (2009), os isótopos podem ser divididos em dois tipos fundamentais, estáveis e instáveis (ou radiogênicos), sendo descritos até o momento um total de 300 para isótopos estáveis e 1200 para isótopos instáveis.

De um modo geral, os isótopos estáveis são caracterizados por apresentarem configurações nucleares estáveis, ou seja, não alteram a massa ao longo da sua existência, diferentemente dos isótopos radioativos, que decaem e alteram sua massa por emissão de energia ou partículas subatômicas (Martinelli et al., 2009).

É importante elucidar que por não alterarem suas abundâncias a partir do decaimento radioativo, a variação na razão de isótopos estáveis ocorre principalmente por processos de fracionamento isotópico. Logo, estes processos, geralmente são caracterizados como efeitos cinéticos e efeitos de equilíbrio, ocorrendo em todos os elementos químicos, contudo, sendo mais observados em isótopos de menor massa atômica (Criss, 1999; Allègre, 2008; Bastos, 2014).

Já os isótopos radiogênicos ou instáveis são oriundos do decaimento radioativo de elementos químicos, processo em que um nuclídeo se transforma espontaneamente em outro, sendo este processo caracterizado pela emissão de radiações  $\alpha$ ,  $\beta$  e/ou  $\gamma$  (Faure, 1986, Allègre, 2008, Hoefs, 2009).

O decaimento de um nuclídeo radioativo ao longo do tempo, possibilita a formação de nuclídeos radiogênicos, alterando-se assim, as abundâncias dos elementos envolvidos no processo, como no decaimento do  $^{238}\text{U}$  para o  $^{206}\text{Pb}$  (Allègre, 2008) (Figura 2.2).

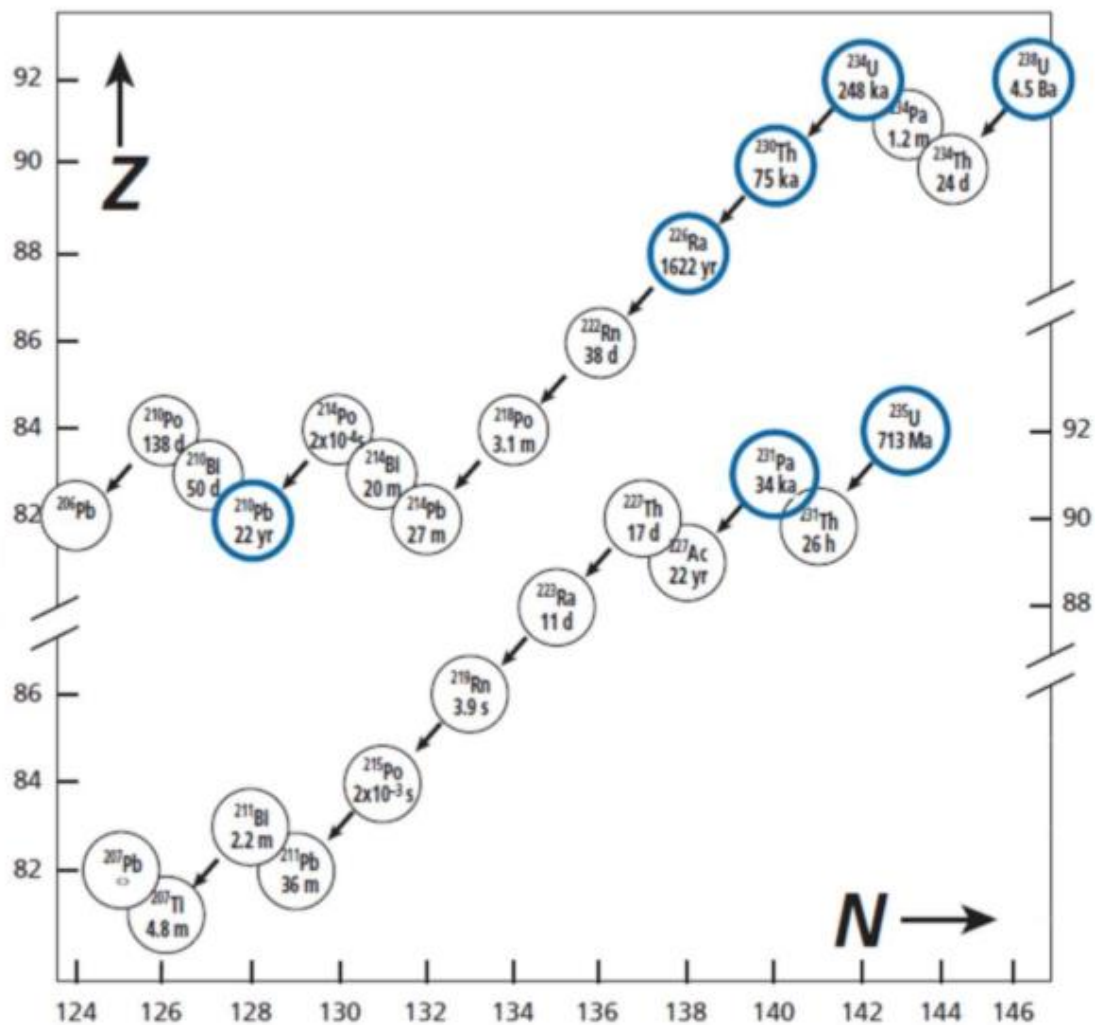


Figura 2.2 - Decaimento radioativo do  $^{238}\text{U}$  para  $^{206}\text{Pb}$  e do  $^{235}\text{U}$  para  $^{207}\text{Pb}$  (Allègre, 2008).

Deste modo, o decaimento radioativo é um dos principais processos capazes de produzir variações na abundância de isótopos, seguido do processo de fracionamento isotópico, que é ocasionado por pequenas diferenças químicas e físicas entre os isótopos de um elemento (Hoefs, 2009).

### 2.3. Fracionamento Isotópico

O fracionamento isotópico ou discriminação isotópica é a estrutura conceitual que fundamenta a interpretação de dados de pesquisas que se utilizam de isótopos estáveis. Conforme Hoefs (2009) e Rodrigues (2013), este fenômeno corresponde à separação dos isótopos em substâncias químicas diferentes, entre duas fases da mesma substância e entre moléculas individuais, sendo causado por processos naturais ou artificiais.

Este processo também pode ser entendido como a variação na proporção entre os isótopos estáveis de um determinado composto, que ocorre ao passar por processos físico-químicos ou biológicos. Nesse contexto, as concentrações isotópicas dos reagentes e produtos diferem progressivamente devido à sucinta diferença nas propriedades físicas (quantidade de nêutrons que compõem a massa atômica desses elementos) (Martinelli et al., 2009; Barbosa, 2012), existindo deste modo, o enriquecimento ou empobrecimento de um isótopo em relação ao outro.

Com base na obra de Hoefs (2004; 2009) e Allègre (2008), entende-se que os fenômenos que ocasionam o fracionamento isotópico podem ser traduzidos na **reação de troca de isótopos** (um caso especial de equilíbrio químico geral), nos **processos cinéticos**, os quais dependem principalmente das diferenças nas taxas de reação das moléculas isotópicas e **na difusão**, que considera a maior mobilidade dos isótopos mais leves em relação aos mais pesados. Também deve ser considerada a influência de outros fatores, tais como: pressão, temperatura e estrutura cristalina de moléculas.

De acordo com Martinelli et al. (2009), o fracionamento isotópico pode estar associado a um efeito termodinâmico ou cinético. Este efeito refere-se ao fracionamento que ocorre em situações de equilíbrio químico, os quais acontecem à maioria dos processos de fracionamento isotópico. Ainda, para Martinelli et al. (2009), um exemplo bastante frequente, é a troca de  $\text{CO}_2$  atmosférico e de  $\text{HCO}_3^-$  na interface ar-água, onde esse equilíbrio varia em função da temperatura, diferentemente do que acontece com efeito cinético, no qual geralmente se relaciona às reações biológicas e aos processos físicos, como o da difusão de um gás.

Em síntese, White (2005) defende que fracionamentos com origem por efeito de equilíbrio, decorrem de movimentos rotacionais, translações e vibracionais das moléculas que compõem fluidos (gases e líquidos) e de átomos presentes em cristais, onde a energia que participa destes movimentos depende da massa. Logo, para este autor, os sistemas tendem a ajustar-se de modo a minimizar energia, nos quais os isótopos são distribuídos a compor configurações que também minimizem a energia vibracional, rotacional e translacional de um sistema (Rodrigues, 2013). Por fim, ainda é considerado que dos três tipos de energia, a energia vibracional é mais a fundamental no processo de fracionamento isotópico, além de ser a único modo disponível de movimento para átomos configurados no estado sólido.

Nesse contexto, a partir da relação fracionamento, energia e movimentos de vibração, translação e rotação moleculares, vários autores, a exemplo Hoefs (2009),

White (2005), Allégre (2008) tendem a aprofundar o entendimento e a discussão dos processos de fracionamento por uma perspectiva mais quantitativa, onde, a partir das deduções feitas na Lei de Boltzman, que descreve a distribuição de estados de energia, utilizam da mecânica quântica a determinar a probabilidade de uma molécula possuir energia interna.

#### 2.4. Método Analítico de Espectroscopia de Massas

No ambiente natural a variação da razão dos isótopos estáveis é muito pequena. Logo, estes isótopos são muito importantes como rastreadores/marcadores (os chamados “*tracers*”), proporcionando uma fonte de informação abundante acerca de processos que acontecem atualmente ou que aconteceram no passado (Ferreira, 2008).

De Laeter et al. (2003) consideram a espectroscopia de massas de razões isotópicas (Isotope Ratio Mass Spectrometry- IRMS) e a técnica de fracionamento natural específico – ressonância magnética nuclear (Site-specific Natural Isotope Fractionation-Nuclear Magnetic Resonance, SNIF-NMR) como métodos analíticos únicos no contexto de estudos isotópicos, capazes de contribuir em inúmeras possibilidades com as mais diferentes áreas da ciência.

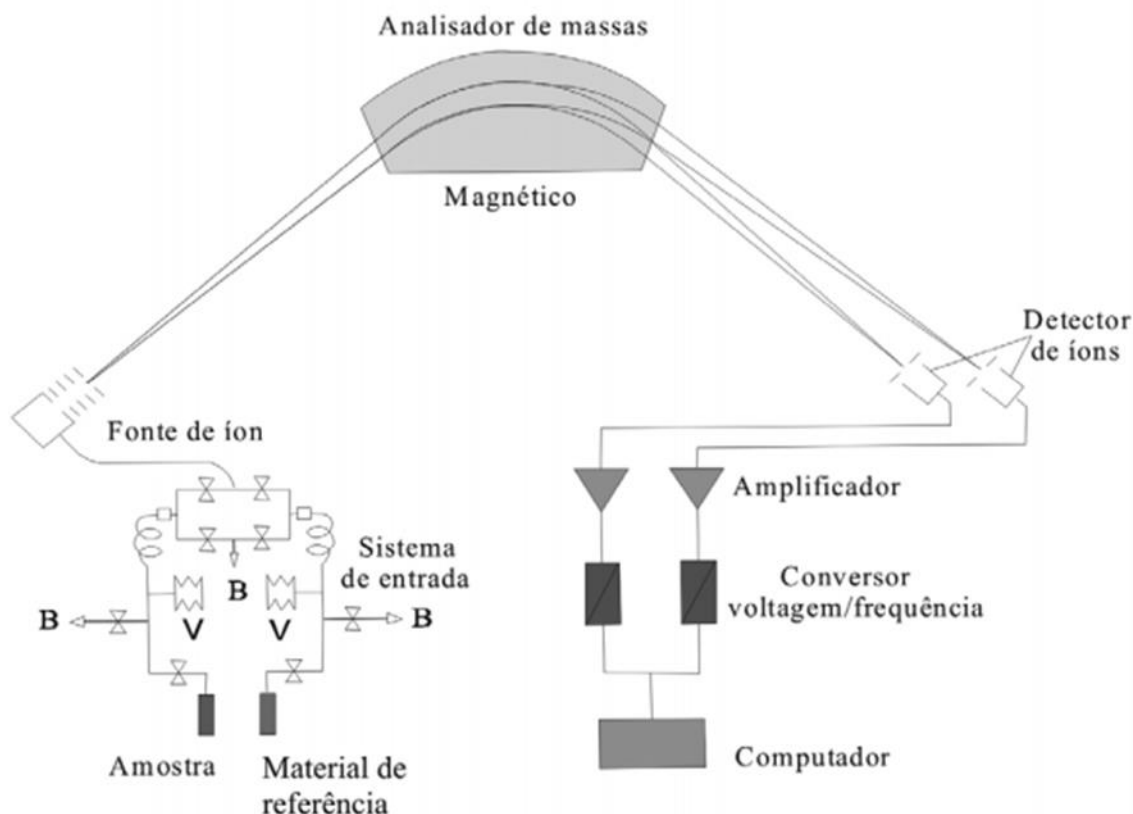
Conforme Nier (1950), Hoefs (2009), Ferreira (2008), o espectrômetro de massas IRMS<sup>2</sup> desenvolvido por Nier em 1940, objetiva fazer medições de forma acurada e comparada nas amostras e no material de referência. Deste modo, considerado o meio mais eficaz para medir a abundância de isótopos, este equipamento é utilizado como a principal técnica analítica para identificar e quantificar átomos e moléculas de uma substância com base na massa da amostra (Rodrigues, 2013).

Em síntese, um espectrômetro de massa pode ser dividido em quatro partes principais: (1) o sistema de entrada, (2) a fonte de íons, (3) o analisador de massa e (4) o detector de íons (Hoefs, 2009) (vide Figura 2.3).

---

<sup>2</sup> Quando o espectrômetro está acoplado ao sistema de entrada utilizando um fluxo de gás hélio, passa a denominar-se IRMS de fluxo contínuo (*continuous flow*) ou CF-IRMS (Hoefs, 2004; Rodrigues, 2013)



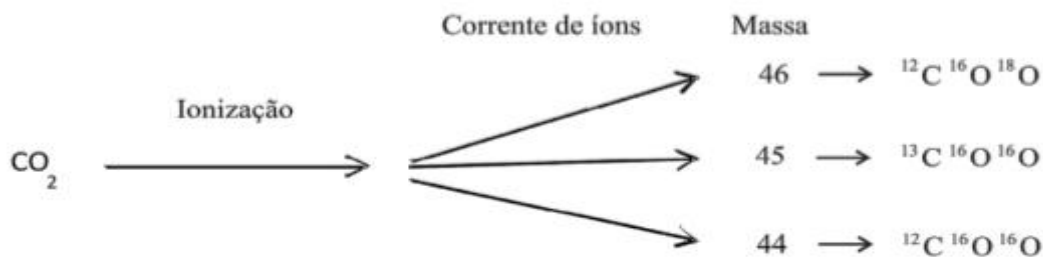
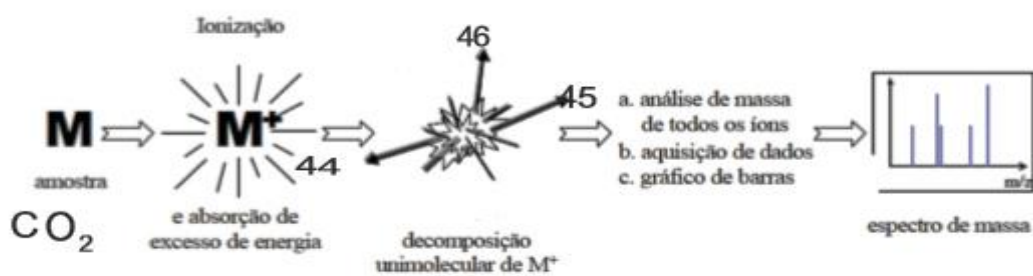


**Figura 2.3** - Representação esquemática de um espectrômetro de massas para análise de isótopos estáveis (Hoefs, 2009).

Logo, o sistema de entrada é concebido para introduzir gases puros, podendo ser duplo ou de fluxo contínuo.

O sistema duplo possui uma válvula de comutação que permite uma análise rápida e consecutiva entre duas amostras de gases (amostra e material de referência) em poucos segundos. Já no sistema automatizado de fluxo contínuo existe um fluxo de gás de arraste (He ultrapuro) que carrega o gás produzido até a entrada do espectrômetro (Hoefs, 2009; Rodrigues, 2013).

Em síntese, o processo analítico se baseia nas moléculas neutras do sistema de entrada que são introduzidas na fonte de íons, onde são bombardeadas por um feixe de elétrons emitidos por um filamento aquecido (tungstênio ou rênio) sendo ionizadas por impacto eletrônico. Logo, formam-se íons gasosos positivos que são acelerados e focados em um feixe de ar, sendo estes, separados por um campo magnético e detectados por copos de Faraday, que detectam simultaneamente todos os feixes iônicos de razões  $m/z$  diferentes, onde serão quantificados e convertidos pelo computador em um espectro de massa correspondente para cada íon formado (Hoefs, 2009; Silva, 2009; Ferreira, 2008, vide Figura 2.4).



**Figura 2. 4** - Diagrama do processo de análise em espectroscopia de massas. Compilado de Pociano (1996) e Patience & Kroon (1994).

Tomando como exemplo a fragmentação isotópica do  $\text{CO}_2$ , os íons de massa 46/44 propiciam a razão  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  e os íons de massa 45/44 a razão  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ , os quais serão comparados a um material de referência internacionalmente certificado.

A unidade aceita para determinar a razão isotópica é o Delta ( $\delta$ ), expresso em per mil (‰):

$$\delta (\text{‰}) = \frac{R \text{ amostra} - R \text{ padrão} \times 1000}{R \text{ Padrão}}$$

**Equação 2** - Determinação da razão isotópica em relação ao material de referência para o analito. Adaptado de Hoefs (2009, p 28.)

Portanto, se o valor da razão  $\delta$  estiver acima de 0 em relação ao material de referência padrão é possível constatar o enriquecimento do isótopo pesado em relação ao mais leve, diferentemente do que acontece quando o valor de  $\delta$  está abaixo de 0 em relação ao padrão, no qual é verificado um empobrecimento do isótopo pesado na amostra.

## 2.5. Material de Referência

Chamado de material de referência ou padrão ideal, as substâncias com uma ou mais propriedades suficientemente bem calibradas, são utilizadas em análises tanto para garantir a acurácia das medições pretendidas quanto para a calibragem de equipamento, garantindo a segurança e rastreabilidade dos resultados obtidos (Tabela 2.3).

Deste modo, o material de referência deve obedecer aos seguintes requerimentos:

- Ter composição homogênea;
  - Estar disponível em quantidades suficientemente grandes;
  - Ser fácil de manusear para preparação química e análise isotópica;
  - Ter uma variação de razão isotópica próxima ao que ocorre no meio natural.
- **Tabela 2.3** - Apresenta os principais padrões para isótopos estáveis, destacando-se o PDB - padrão referente ao Belemnite fóssil da Formação Peedee, do Cretáceo, localizado na Carolina do Sul, EUA. E o Padrão SMOW (Standard Mean Ocean Water) utilizado para comparar razões de Hidrogênio e Oxigênio.

Elemento	Padrão	Padrão
H	Standard Mean Ocean Water	V-SMOW
B	Ácido bórico (NBS)	SEM 951
C	<i>Belemnitella americana</i> da unidade cretácea Peedee Formation, South Carolina	V-PDB
N	Nitrogênio atmosférico	N2 (atm.)
O	Standard Mean Ocean Water	V-SMOW
Si	Grão de quartzo	NBS-28
Si	Troilite (FeS) do meteorite metálico Canyon Diablo	V-CDT
Cl	Seawater chloride	SMOC

## 2.6. Análise em ossos e dentes

Ao se realizar estudos isotópicos com seres vivos atuais é necessário apenas que seja analisado uma pequena quantidade de tecidos e/ou fluidos corporais, ou seja, materiais de grande disponibilidade e de fácil acesso ao pesquisador. Diferentemente do que ocorre quando o objeto de estudo são os fósseis de animais que viveram em ecossistemas pretéritos, onde salvo exceções de preservação, como a preservação de tecidos moles ou preservação em âmbar (Carvalho, 2010), quase sempre o material disponível para análise são ossos e dentes. Isto é, estruturas biomineralizadas que

compõem peças remanescentes que sobreviveram à ação do tempo e que são de amostragem muito limitada.

Para Pasteris & Jones (2008) os materiais biomineralizados, tais como ossos e dentes são compostos por uma parte inorgânica (mineral), que é tipicamente nanocristalino e outra parte orgânica, composta predominantemente por proteína (colágeno). Para os autores, existe uma diferença entre a composição químico-estrutural do esmalte ósseo e dentário, que é traduzido por uma versatilidade funcional da apatita mineral, resultado da adaptabilidade biológica de vertebrados.

Com base em Mays (1998), Rogers & Zioupos (1999), Skinner (2005), Currey et al., (2004), Pasteris & Jones (2008), entende-se na relação mineral entre componentes inorgânicos e orgânicos de tecidos biomineralizados (ou bioapatita) a existência de uma pequena variabilidade na razão destes componentes, a exemplo, o colágeno não só difere entre animais, mas, entre ossos do mesmo animal e ao longo do tempo no mesmo animal.

Nesse contexto, o osso consiste em uma proporção de 45-70% em peso de mineral, 10% em peso de água, e o restante colágeno, além de alguns casos uma pequena proporção de proteínas não colágenas (Pasteris & Jones, 2008). O colágeno é a maior parte da fração orgânica óssea, sendo uma grande proteína fibrosa encontrada em todos os animais, que apresenta três cadeias  $\alpha$ , cada uma com mais de 1000 aminoácidos ligados uns aos outros, essencialmente formados pelos elementos: carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre (Silva & Penna, 2012; Mays, 1998). Em resumo, o osso tem como seus principais componentes cristalitos de bioapatita e microfibrilas de colágeno, os quais estão bem organizados em estruturas nanométricas de matrizes hierárquicas.

Ainda, o osso e dentina são ricos na parte orgânica (>20%) sendo altamente porosos e pouco cristalinos e com pequenos cristais (20x4nm) com muitos defeitos na apatita. Em contraste o esmalte dentário praticamente não possui matéria orgânica (<2%), não é poroso e é altamente cristalino, com cristais maiores (130x20nm) com menos defeitos e alterações (LeGeros, 1981).

Os cristalitos de bioapatita que compõem a parte inorgânica dos tecidos biomineralizados são denominados de hidroxiapatita, trata-se de um fosfato de cálcio que também se encontra inserido entre as fibras de colágeno (Mays, 1998).

Logo, sua composição se baseia na razão molar entre cálcio e fósforo (Ca/P) onde a fórmula estequiométrica é  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , com razão Ca/P igual à 1,67. No

entanto, ressalta-se que outras composições estáveis possuem diferentes razões Ca/P (Rigo et. al, 1999; Pereira, 2014; Souza, 2015, Vide Tabela 2.4).

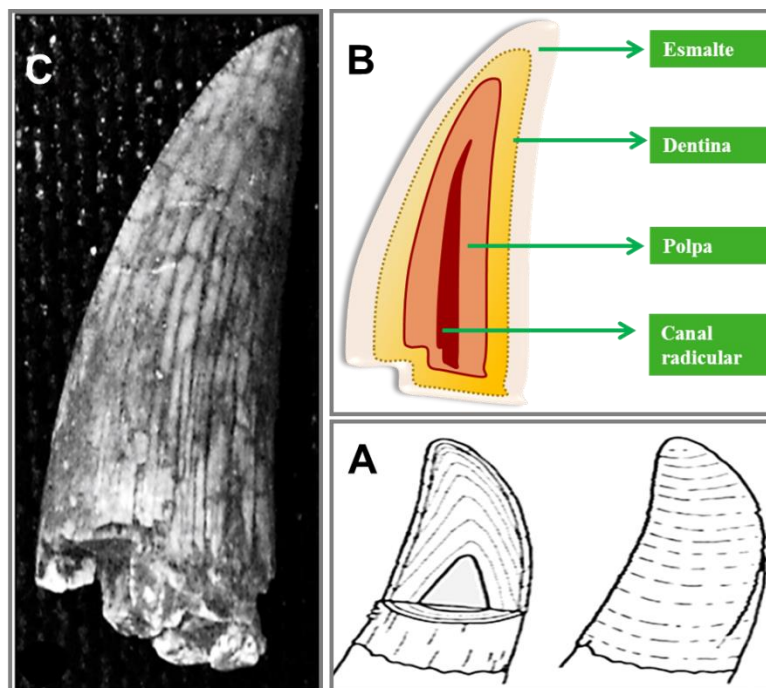
**Tabela 2.4** - Classificação dos fosfatos de cálcio conforme a razão Ca/P (Silva, 2009; Pereira, 2014; Souza, 2015).

Nome	Fórmula	Ca/P	Símbolo	Estrutura Cristalina	Grupo Especial
Hidroxiapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	HA	Hexagonal	P63/m
Cloroapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{Cl})_2$	1,67	Clap	Hexagonal	P63/m
Fluoroapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$	1,67	Fap	Hexagonal	P63/m
Fosfato Octacálcio	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_n \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	OCP	Triclínica	P1
Fosfato Tetracálcio	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2$	2,00	terCP	Monoclínica	P21
Fosfato de Cálcio Amorfo	$\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,50	ACP		
Fosfato Dicálcio Dihidratado	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00	DCPD	Monoclínica	1a
Fosfato Dicálcio Anidro	$\text{CaHPO}_4$	1,00	DGPA	Triclínica	P1
Fosfato $\alpha$ Tricálcio	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	$\alpha$ -TCP	Monoclínica	P21/a
Fosfato $\beta$ Tricálcio	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	$\beta$ -TCP	Romboedra	R3c

Ainda, considera-se que do peso total da hidroxiapatita de 2% a 5% aproximadamente seja composto por carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ), o qual substitui o fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) no cristal, como um defeito na apatita (Lee-Thorp & van der Merwe, 1991; Ambrose, 1993).

Conforme Mays (1998), dentes apresentam sua composição basicamente em três tecidos duros: o esmalte, a dentina e o cimento, além da polpa dental, em que se encontram as terminações nervosas e os vasos sanguíneos. De um modo geral, o esmalte dentário é formado quase na totalidade por material inorgânico (~98%) e não considerado tecido vivo, uma vez que não apresenta estrutura celular, diferentemente da dentina que apresenta células e é formada em 25% por colágeno e do cimento que possui uma estrutura similar à dos ossos e também é considerado vivo (Mays, 1998; Bastos, 2014). Ainda, Pasteris & Jones (2008) ressaltam que a dentina possui características semelhantes às do osso, mas o esmalte é surpreendentemente diferente,

especialmente por não possuir colágeno e o seu teor em 96% mineral. Deste modo, o esmalte é muito mais cerâmico e frágil do que a dentina ou o osso (Figura 2.5).



**Figura 2.5** - Morfologia e linhas de crescimento de dente de Crocodiliforme. Compilado de Lucas & Prevot (1991) e Straight (2004). (a) linhas de crescimento. (b) anatomia de dente. (c) dente de Baurusuchidae (UnB).

Para Lucas & Prevot (1991) e Straight (2004), o esmalte dentário é mais denso, mais cristalino e menos orgânico do que o osso e é, portanto, mais resistente a modificações pós-deposicionais. Logo, é o material ideal para a análise de isótopos estáveis.

Diferentemente de ossos, dentes não sofrem remodelação após a sua formação (Bastos, 2014). Enquanto os elementos químicos presentes nos ossos são geralmente aqueles incorporados durante os últimos anos de vida do indivíduo, os elementos presentes nos dentes são os assimilados durante toda a vida do animal (Hillson, 1996; Mays, 1998; Bastos, 2014).

Nesse contexto, a análise em ossos pode ser descrita como um registro pontual que retrata os últimos anos de vida do indivíduo, questão que tem sido plenamente discutida em estudos arqueológicos, por exemplo, Rasmussen et al., (2013), ao discutir o envenenamento de humanos medievais por determinação de mercúrio total em ossos longos (i.e. fêmur) de múmias dinamarquesas.

De modo análogo, a análise isotópica em tecidos biomineralizados de dentes representa um registro de história de vida, uma vez que o  $\delta^{13}\text{C}$  do carbonato da apatita deriva do bicarbonato dissolvido no sangue, o qual corresponde a todas as fontes carbono ingeridas na dieta do indivíduo (i.e. carboidratos, proteína e lipídeos) (Ambrose, 1997; Yoder, 2010; Bastos, 2014).

No entanto, entre os táxons aqui analisados, para crocodiliformes e dinossauros o material analítico é representado por dentes que apresentam constante muda, não possibilitando, a exemplo de mamíferos, reconstruir uma história de vida com base nas informações contidas no esmalte dentário. Contudo, as linhas de crescimento de dentes de crocodiliformes armazenam conteúdo isotópico referente a cada ano de vida do animal, sendo assim, torna-se possível construir inferências sobre hábitos alimentares nesse dado intervalo de tempo, geralmente seis meses, da mesma forma que aspectos da sazonalidade do ambiente em que viviam, como variação de temperatura ou umidade.

## **2.7. Da contaminação diagenética de amostras**

Uma questão importante em estudos isotópicos é a preocupação com a contaminação diagenética das amostras, como uma precipitação secundária da apatita ou uma alteração da composição isotópica por fracionamento pela ação de bactérias (Zazzo et al., 2004).

De acordo com Koch et al.(1996), apesar do estrôncio, o fosfato e o carbonato na hidroxiapatita servirem de substratos para análises isotópicas, existe uma grande discordância sobre a integridade da estrutura isotópica do carbonato da hidroxiapatita biogênica, entre outros motivos, ressalta-se o tipo de tecido utilizado para as análises e os tratamentos químicos no preparo do material (e.g. Sullivan e Krueger, 1981, 1983; Schoeninger e DeNiro, 1982, 1983; Nelson et al.,1986; Konh et al., 1999; Garvie-lok et al., 2004). Nesse contexto, vários autores têm ponderado sobre a fragilidade e a susceptibilidade da hidroxiapatita óssea à alteração diagenética e afirmam em contraposição de uso analítico que o carbonato da hidroxiapatita dentária é muito mais representativo das assinaturas isotópicas originais (e.g. Lee-Thorp e van der Merwe, 1987, 1991; Quade et al., 1992; Wang & Cerling, 1994), sendo considerado o tecido mais indicado para estudo em fósseis.

Ressalta-se, por exemplo, que cristais de apatita que compõem o esmalte dos dentes são grandes e densos, fazendo com que trocas isotópicas em condições inorgânicas tenham pouco efeito sobre a composição isotópica no oxigênio dos fosfatos mesmo em escalas de tempo geológicas (Kolodny et al., 1983; Lécuyer et al., 1999). Além disso, o colágeno de ossos e dentes pode se preservar por milhares de anos após o soterramento do organismo, sendo resistente a alterações diagenéticas e tendendo a manter as mesmas razões isotópicas de carbono e nitrogênio do indivíduo em vida (Ambrose, 1993). No entanto, para fósseis datados em milhões de anos, que representam períodos geológicos diferentes, é preciso um volume maior de dados para sustentar esta afirmação.

Para Ambrose & Krigbaum (2003), a alteração diagenética e a contaminação da apatita do esmalte ósseo e dentes são questões fundamentais que ainda e por um bom tempo estarão sob investigação. No entanto, é observado um intenso volume de pesquisas que exploram essa temática em diferentes áreas como a arqueologia, astrobiologia, estudos ambientais e paleontologia (Garvie-lok et al., 2004; Dennis et al., 2010; Reynard & Balter, 2014; Engel, 2015; Makarewicz et al., 2015) sendo discutido novos conceitos e técnicas de análise.

## 2.8. Isótopos Estáveis de Carbono

De acordo com Hoefs (2009), o elemento Carbono, base estrutural dos seres vivos, ocorre em uma grande variedade de compostos na Terra, desde orgânicos reduzidos na biosfera até oxidados como o CO<sub>2</sub> e carbonatos. Possui dois núclídeos estáveis <sup>12</sup>C e <sup>13</sup>C com abundâncias respectivamente em média de 98.93% e 1.07% (Rosman & Taylor, 1998). É medido utilizando δ em ‰ como δ<sup>13</sup>C, sendo o padrão usado o carbonato PDB, referente a um belemnite do Cretáceo, encontrado na região na Carolina do Sul, EUA. (Equação 3)

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{{}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C amostra} - {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C O padrão} \times 1000}{{}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C padrão}}$$

**Equação 3** - Medida da razão de <sup>13</sup>C. Hoefs, (2009).



Os principais fatores responsáveis pelo fracionamento do carbono são: troca isotópica por reação de equilíbrio, que ocorre dentro do sistema inorgânico de carbono ( $\text{CO}_2$  atmosférico – bicarbonato dissolvido – carbonato sólido), onde o enriquecimento do  $^{13}\text{C}$  nos carbonatos está relacionado com variações na temperatura ambiente (Hoefs, 2009).

Efeitos cinéticos isotópicos durante a fotossíntese, sendo selecionado pelos vegetais o isótopo mais leve ( $^{12}\text{C}$ ) nos compostos orgânicos sintetizados, consequentemente reduzindo o valor do  $\delta^{13}\text{C}$ . Neste processo os principais passos da discriminação isotópica durante a fixação do carbono orgânico são: a difusão e absorção intracelular do  $\text{CO}_2$  e a síntese biológica dos componentes celulares (Hoefs, 2009).

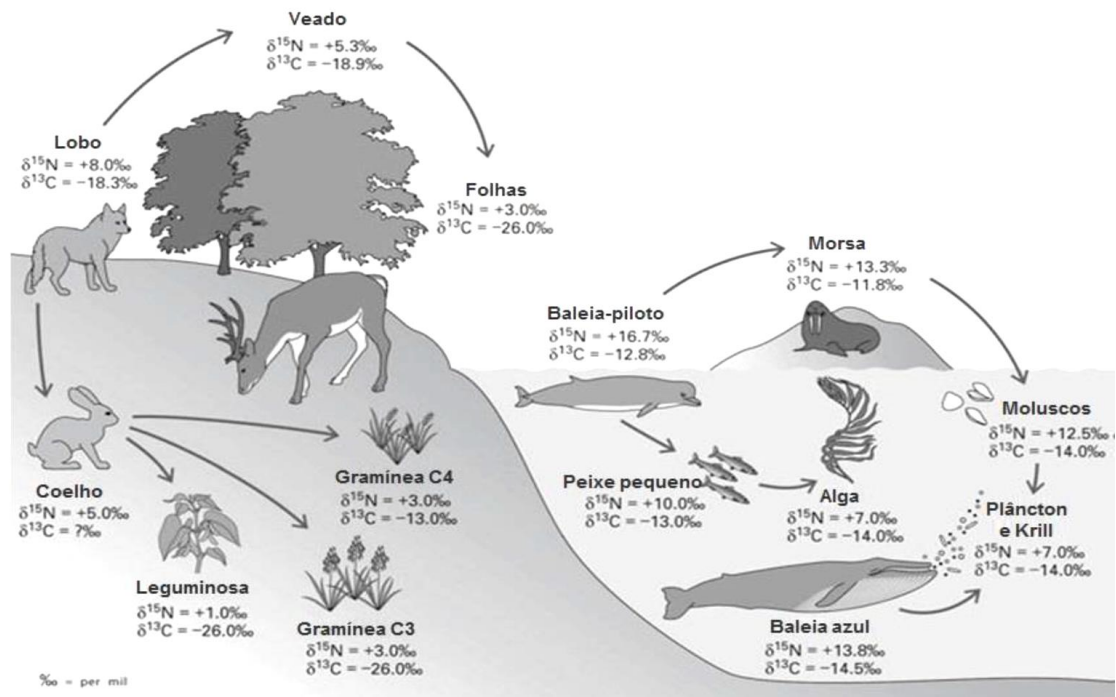
Conforme Lee-Thorp et al., (1989) e Cerling & Harris (1999), o fracionamento do carbono observado nos tecidos biomineralizados de ossos e dentes é específico para herbívoros, carnívoros e onívoros, sendo as assinaturas isotópicas para este elemento correlacionadas a dieta e a posição trófica dos consumidores (Kelly, 2000). Nesse contexto, a primeira indicação para o uso de isótopos estáveis de carbono em estudos de ecologia trófica surgiu quando a diferença entre assinaturas para plantas C3 e C4 foi descoberta (Bender, 1971; Smith e Epstein, 1971), onde partindo da fonte de dieta (produtor) é possível traçar a assinatura isotópica do alimento pelos consumidores ao longo da cadeia trófica (Kelly, 2000).

Para Post (2002), nos ecossistemas terrestres o  $\delta^{13}\text{C}$  é bastante utilizado para discriminação de dietas baseadas em plantas com diferentes caminhos fotossintéticos, C3 e C4 (e.g. Rounick e Winterbourn, 1986; Peterson e Fry, 1987; O'Leary et al., 1992). Já para lagos, o  $\delta^{13}\text{C}$  é útil ao diferenciar em duas fontes principais de energia disponível, a produção litoral (próxima à costa) a partir de algas e detritos e a produção pelágica (água aberta) do fitoplâncton.

Com base em Cerling et al. (1997), Lee Thorp et al. (1998), Cerling & Harris (1999), MacFaden et al. (1999), a razão isotópica para seres vivos atuais exibe no carbonato da apatita de herbívoros valores em  $\delta^{13}\text{C}$  próximos de +14‰ comparado com os valores das plantas consumidas (i.e. C3 e C4), diferentemente do que é registrado para carnívoros e onívoros, que apresentam valores de enriquecimento em  $\delta^{13}\text{C}$  próximos +9‰ em relação aos itens de sua dieta. Mais especificamente, a assinatura de  $\delta^{13}\text{C}$  em herbívoros está relacionada à preferência de dieta entre plantas C3 (-4‰ a +4‰) e C4 (-15‰ a 10‰). O mesmo também vale para carnívoros, onde grupos que se alimentam de herbívoros consumidores de plantas C4 e/ou recursos marinhos possuem

valores de  $\delta^{13}\text{C}$  mais enriquecidos (próximo de  $-6\text{‰}$ ) em relação aos que se alimentam de herbívoros consumidores de recursos C3 (próximo de  $-15\text{‰}$ ). Informação também contida em Bastos (2014).

A Figura 2.6 ilustra valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e do  $\delta^{15}\text{N}$  de teias alimentares terrestres e marinhas, sendo observado que valores são mais positivos em ambientes marinhos.



**Figura 2.6** - Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  de plantas e animais (colágeno) em ambientes terrestres e marinhos (Price e Burton, 2011)

O trabalho de Bocherens et al. (1994) com ursos do Pleistoceno, considera que assinaturas isotópicas no esmalte dos dentes de duas espécies de ursos são semelhantes e refletem a fisiologia metabólica destes animais. Ainda para os autores, os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  em torno de  $-14\text{‰}$  nos ursos da caverna, apesar de aparentemente serem baixos quando comparados com carnívoros ( $-12\text{‰}$ ) e herbívoros ( $-10\text{‰}$ ) da mesma época, podem ser explicados pela natural quebra de lipídeos como recurso energético durante a hibernação. Este tipo de estudo exemplifica a necessidade da comparação de valores entre elementos bióticos e/ou abióticos que contemplem o mesmo ambiente e a mesma temporalidade. Por fim, considera-se em Bocherens et al. (1994) que a abundância isotópica de carbono em ossos e dentes de vertebrados fósseis, pode ser utilizada principalmente para a determinação da dieta e ecologia de espécies extintas. Logo, as abundâncias isotópicas tanto no colágeno fóssil quanto no carbonato da hidroxiapatita

refletem diretamente os aminoácidos e a origem destes na dieta. Além disso, é preciso ter cautela na interpretação de informações, uma vez que ocasionalmente valores medidos possam ser quantitativamente parecidos ao discriminar fenômenos fisiológicos e ambientais.

Deste modo, são inúmeros os trabalhos (e.g. MacFaden et al.,1996; Brunet et al.,2000; Koch et al.,2007; Fricke et al., 2008; Fricke & Pearson, 2008; Eagle et al., 2011) que se dedicam ao estudo dos isótopos estáveis de C e outros elementos em material fóssil e, certamente, os resultados apresentados contribuem a um melhor entendimento sobre paleodietas de animais extintos, nicho ecológico e padrões climáticos de paleoambientes, entre outras fenômenos importantes à história natural.

## 2.9. Isótopos estáveis de oxigênio

Sendo o elemento químico mais abundante na Terra, o oxigênio está presente em todas as interfaces do ambiente, seja na atmosfera e oceanos ou no silicato terrestre (Allègre, 2008; Hoefs 2009). Este elemento possui três isótopos estáveis proporcionalmente divididos em  $^{16}\text{O}$  (99,75%),  $^{17}\text{O}$  (0,038%) e  $^{18}\text{O}$  (0,205%) (Rosman & Taylor, 1998). As análises são realizadas com os isótopos de  $^{18}\text{O}$  e  $^{16}\text{O}$  e apresentadas por meio do parâmetro  $\delta^{18}\text{O}$  (Allègre, 2008), sendo os padrões SMOW (Standard Mean Ocean Water) e o PDB os mais utilizados em rotina de análise. (Observe a Equação 4).

$$\delta^{18}\text{O} = \frac{{}^{18}\text{O}/{}^{16}\text{O amostra} - {}^{18}\text{O}/{}^{16}\text{O padrão} \times 1000}{{}^{18}\text{O}/{}^{16}\text{O padrão}}$$

**Equação 4-** Medida da razão isotópica de Oxigênio.

De um modo geral, as medidas sistemáticas do  $\delta^{18}\text{O}$  de vários compostos naturais (minerais, rochas, vapor de água, por exemplo) revelam que suas composições isotópicas apresentam características específicas que dependem da natureza química e origem geoquímica dos compostos, e não de suas idades geológicas e temperatura de formação (Allègre, 2008; Bastos, 2014).

Considera-se em Hoefs (2004; 2009) e Rodrigues (2013), que nos ecossistemas o elemento oxigênio captado pelos seres vivos provém de três fontes principais: gás

oxigênio (O<sub>2</sub>), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e água (H<sub>2</sub>O), onde o valor da razão  $\delta^{18}\text{O}$  representa diversos fenômenos traduzidos em algumas formas fracionamento, como as reações de troca de equilíbrio; processos cinéticos que envolvem a fotossíntese e a respiração; além das diferenças de pressão de vapor, o que ocorre no ciclo da água; sendo mais atuante aquele que ocorre entre a água líquida e o vapor de água.

Diante dos fenômenos de fracionamento para O citados acima, Rodrigues (2013) compreende que, devido à grande abundância e à elevada diferença de massas, a razão  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  é normalmente determinada, podendo variar em cerca de 10 ‰. Com relação às águas meteóricas (incluindo vapor, nuvem, chuva), estas apresentam uma ampla variação, com valores entre -40 e 10 ‰, enquanto as águas oceânicas possuem valor de  $\delta^{18}\text{O}$  em torno de 0 ‰ (Hoefs, 2004; 2009).

Ainda, para Rodrigues (2013), esta variação na razão isotópica somado aos fenômenos de fracionamento que ocorrem no ciclo d'água e que estão cineticamente relacionados à temperatura ambiental, pode potencialmente ser utilizada como marcador a fim de diferenciar ambientes glaciais de não glaciais, além da estimativa de temperatura, como feito em carapaças de ostracodes para o Cretáceo.

Tomando como referência o objeto de estudo desta Tese, vários estudos (e.g. Miller et al., 1987; Bryant et al., 1996; Harrel et al., 2016; Goedert et al., 2016) se dedicam a entender fenômenos que ocorreram nos ecossistemas pretéritos, isto é, como os valores das razões de isótopos estáveis são traduzidos nos principais processos de fracionamento de elementos estáveis e quais tipos de inferências são mais adequadas a fim de representar fenômenos paleontológicos.

O trabalho de Amiot et al. (2010) é um exemplo desse tipo de estudo, onde a partir de análises em oxigênio do fosfato da bioapatita, estes autores investigam o status metabólico de vertebrados, principalmente referente à determinação de homeotermia de dinossauros ornitíscios.

Outro trabalho bastante discutido está relacionado à razão  $^{18}\text{O}$  encontrada no esmalte de dentes de tiranossaurídeos (Straight et al., 2004). Os autores sugerem que as linhas de crescimento nos dentes que completam um ciclo anual, fornecem informações sobre episódios de sazonalidade ao longo do ano vivido pelo animal. Nesse contexto, a água ingerida pelo animal terá seus isótopos de oxigênio armazenados no carbonato e fosfato da bioapatita (esmalte do dente) dos fósseis analisados, sendo possível a realização de inferências em variáveis como taxa de umidade, variação de temperatura e até mesmo, mecanismos fisiológicos de termorregulação do animal. Deste modo, esse

tipo de estudo exibe uma ferramenta interessante à área de monitoramento ambiental, onde resultados a priori sugerem uma grande mudança climática para região em que foram encontrados os dentes dos tiranossaurídeos.

## 2.10. Isótopos estáveis de estrôncio

O estrôncio (Sr) é um elemento químico do grupo dos metais alcalinos terrosos (grupo 2A) que possui massa atômica 87,6 e encontra-se no estado sólido a temperatura ambiente (Faure, 2005; IUPAC, 2016). São quatro os isótopos estáveis que ocorrem naturalmente  $^{84}\text{Sr}$ ,  $^{86}\text{Sr}$ ,  $^{87}\text{Sr}$ ,  $^{88}\text{Sr}$ , sendo o  $^{88}\text{Sr}$  (82,53%) o isótopo mais abundante e o  $^{84}\text{Sr}$  (0,56%) o menos abundante (Faure, 2005; Faure & Messing, 2005, IUPAC, 2016). O  $^{87}\text{Sr}$  é radiogênico e proveniente do decaimento radioativo do  $^{87}\text{Rb}$  pela emissão de uma partícula  $\beta^-$ . Conseqüentemente, a razão  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  varia com o tempo e em função da razão Rb/Sr do material (Kendal & McDonnell, 1998). Ainda, considerando que o estrôncio é um elemento de massa relativamente alta, o fracionamento biológico e geológico é muito pequeno em comparação com elementos de baixa massa, como o H, C, O e S (Capo et al., 1997).

Em função de suas características químicas, o estrôncio se comporta no organismo de modo similar ao cálcio, inclusive substituindo este na formação dos cristais de hidroxiapatita  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  da matriz mineral dos tecidos calcificados como ossos e dentes (Nelson et al., 1986, Faure, 1986).

Deste modo, o estrôncio ingerido será incorporado aos cristais da hidroxiapatita de ossos e no esmalte dos dentes, podendo ser quantificada a variação de estrôncio entre os períodos de vida do indivíduo, do início da geração até a adolescência (Mays, 1998; Bastos, 2014; Ericson 1985, Knudson et al. 2004).

Conforme Bastos (2014), esse raciocínio pode ser aplicado aos sítios arqueológicos, quando a assinatura isotópica de estrôncio no esmalte dentário é igual à da região na qual se localiza o sítio. Sendo, portanto, possível utilizar os isótopos de estrôncio como traçadores a fim de definir padrões de mobilidade dos indivíduos analisados.

Para Bentley (2006), os isótopos de estrôncio servem como assinaturas geoquímicas que podem muito bem definir a relação entre um esqueleto pré-histórico e uma área geológica, dependendo de como foi a mobilidade desse indivíduo ao longo do

seu tempo de vida. Uma vez que o estrôncio substitui o cálcio nos tecidos biomineralizados como ossos e dentes, existem fontes adicionais de estrôncio ao indivíduo de origem não geológica na biosfera que devem ser levadas em consideração.

Nesse contexto, Price et al. (2002) consideram que existe uma distinção entre estrôncio geológico e o estrôncio encontrado nas fontes biológicas. Logo, a razão isotópica encontrada nos organismos é derivada de mistura do estrôncio de origem aquática e terrestre (Faure, 1986; Miller et al., 1993). Além disso, em uma mesma formação geológica ocorrem heterogeneidades litológicas, o que implica também em uma heterogeneidade na razão  $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$  (Bastos, 2014).

Em síntese, Bentley et al. (2006) sugerem que a faixa de assinatura local é obtida pela análise do estrôncio que se encontra assimilado nos ossos e dentes dos animais que habitaram a região estudada, ou seja, a fonte biológica de assinatura de estrôncio.

Nos últimos anos, os marcadores isotópicos também têm sido empregados em diversas áreas da ciência, principalmente aos estudos relacionados à ecologia, sendo possível mapear o movimento geográfico de certos materiais e espécies (Price et al., 2001). Conforme essa linha de pesquisa e observando a característica empregada em estudos arqueológicos de basear suas análises em tecidos biomineralizados, é sugestível a aplicabilidade desse tipo de estudo em fósseis de animais, como tem sido feito por vários autores que buscam, por exemplo, entender alterações paleoambientais e a relação com eventos de extinção ou endemismo de espécies (Kelley et al., 2014; Porder et al., 2003). Porém, esse tipo de pesquisa ainda é de cunho inédito no Brasil.

## **2.11. Aspectos gerais do mercúrio e bioacumulação**

De ocorrência natural na crosta terrestre com abundância estimada em  $80\mu\text{g}/\text{Kg}$  (Who, 2003), o mercúrio é um dos metais de maior impacto nos ecossistemas, ao mesmo tempo em que provavelmente é o elemento traço mais estudado no ambiente por pesquisadores de diversas áreas. Conhecido na mitologia por sua fluidez, este metal rapidamente se espalha por todo o planeta por fenômenos naturais ou antropogênicos, podendo bioacumular nos seres e biomagnificar nos ecossistemas (Olivero & Jonhson, 2002; Falandysz, 2002; Tarras-Wahlberg et al., 2001; Satoh, 2000; Shenker et al., 1998; Morel et al., 1998).

De acordo com Olivero & Jonhson (2002), uma vez convertido em compostos orgânicos por microorganismos, o mercúrio rapidamente se liga a proteínas onde será bioacumulado e biomagnificado pelas espécies ao longo da cadeia alimentar. Desta forma, as espécies predadoras, que ocupam o topo da cadeia alimentar contêm em sua biomassa uma concentração de mercúrio muito maior que as espécies predadas.

Nesse contexto, Cabana et al. (2004) enfatizam a eficiente transferência do mercúrio acumulado no primeiro nível trófico (produtores) para o nível trófico imediatamente superior, os consumidores, sendo que quanto mais longa for a cadeia, maior será a concentração acumulada pelo consumidor final, isto é, o ocupante do topo da cadeia trófica terá uma quantidade muito maior de Hg do que um organismo de um nível inferior na cadeia trófica.

Para Atwel et al. (1998), são inúmeros os estudos dedicados a investigar o potencial de biomagnificação do mercúrio ao longo das cadeias tróficas de diferentes ecossistemas. No entanto, ressaltam que não existe uma conformidade de resultados, o que pode ser explicado pela dificuldade de se caracterizar com precisão a estrutura trófica em redes alimentares, já que muitos destes trabalhos são baseados em métodos tradicionais de avaliação registrando dados apenas por observação de comportamento alimentar e/ou análise do conteúdo estomacal. Deste modo, os autores concluem que estes métodos seriam insuficientes para a predição de hábitos alimentares de um organismo ao longo do tempo e que técnicas espectrométricas para HgT e Isótopos Estáveis são as alternativas analíticas mais indicadas para esse tipo de estudo, conferindo dados confiáveis e quantificáveis.

Diante disso, Morel et al. (2008) consideraram como indescritíveis vários dos caminhos pelos quais o mercúrio é transformado e bioacumulado no ambiente e sugerem a necessidade de mais estudos na compreensão da dinâmica desse elemento em seu ciclo biogeoquímico, assim como é proposto na presente Tese.

Ainda, recentemente, estudos na área antropologia biológica (Rasmussen et al., 2013), verificaram a taxa de concentração de mercúrio em esqueletos medievais de seres humanos, a fim de estabelecer a relação causa-morte com o ambiente, mostrando que esse elemento também está presente em ossos e outros tecidos biomineralizados, ou seja, estruturas biogênicas que sobreviveram a ação do tempo. Logo, essa linha de pesquisa abre inúmeras possibilidades que vão desde problemas fisiológicos e sua relação à toxicologia, até mesmo ao entendimento e proposição de inferências sobre

comportamento de espécies que viveram no passado, ressaltando entre outros aspectos a determinação de posição trófica entre os espécimes fósseis estudados.

## 2.12. Propriedades físicas e químicas do mercúrio

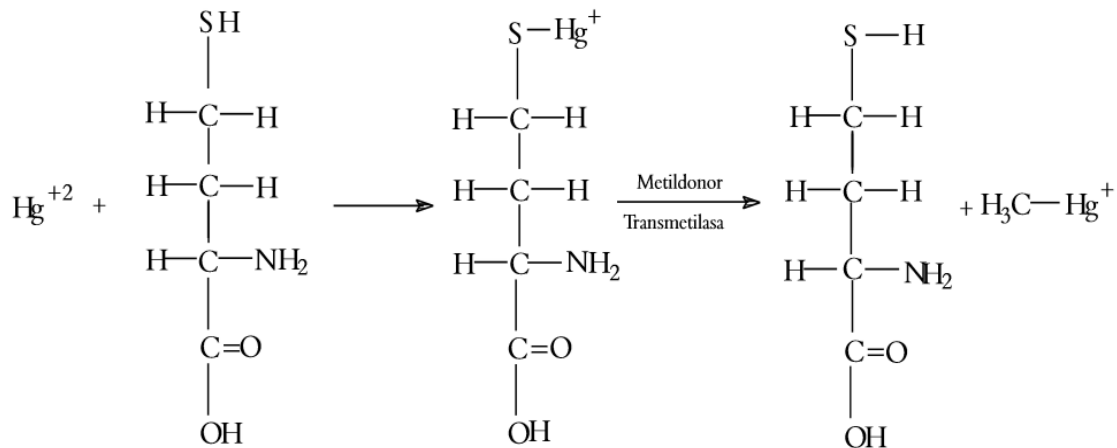
Conforme Who (1998) e Olivero & Jonhson (2002) o mercúrio é o único metal líquido a temperatura ambiente, do mesmo modo que a 25°C possui densidade de 13.456g/ml e pressão de vapor em 0.00212mm de Hg. Para Clarckson & Magos (2006) e Azevedo (2003), as propriedades físicas de baixa viscosidade e alta densidade e excelente condutância elétrica e superfície refletora são exemplos das razões que explicam pelo qual o mercúrio é extremamente utilizado. Nesse contexto, Olivero & Jonhson (2002) concordam e ilustram as inúmeras aplicações do metal, como as que ocorrem na indústria e agricultura, além de ressaltarem as propriedades toxicológicas e os riscos de seu uso.

No ambiente, o mercúrio pode ser agrupado em várias espécies químicas, sendo determinado nas formas inorgânica ou orgânica. Para a primeira forma são classificados em seus estados de oxidação normais, os quais são: o  $Hg^0$  (mercúrio elementar), o  $Hg^+$  (íon mercurioso ou mercúrio (I)) e o  $Hg^{2+}$  (mercúrio divalente ou íon mercúrico ou mercúrio (II)) (Olivero & Jonhson, 2002; Tavares, 2007). Já para a segunda forma, o Hg é determinado nos compostos orgânicos (organometálicos) que acontecem quando o mercúrio está unido covalentemente a um ou dois átomos de carbono para formar compostos  $RHgX$  e  $RHgR'$ , onde R e R' representam grupos orgânicos e X para representar grupos eletronegativos como os íons cloreto (Cl<sup>-</sup>), brometo (Br<sup>-</sup>) ou Sulfeto (S<sup>2-</sup>), sendo mais frequente o metilmercúrio ( $CH_3HgX$ ), o fenilmercúrio ( $C_6H_5HgX$ ), o metoximetilmercurio ( $CH_3OC_2H_4HgX$ ) e o dimetilmercurio ( $(CH_3)_2Hg$ ) (Olivero & Jonhson, 2002).

Ainda, conforme Olivero & Jonhson (2002), considera-se a via bioquímica de metilação do Hg nas seguintes bactérias anaeróbicas: *Pseudomonas spp.*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli* e *Enterobacter aerogenes*. Além da metilação por bactérias, também ocorrerá a metilação por fungos, sendo feita por: *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Neurospora crasa*. Deste modo, para o autor, esses microorganismos facilitam a formação de complexos entre o íon mercúrico (II) e a cisteína através da interação do íon mercúrio ( $Hg^{2+}$ ) com o grupo sulfidríla dos



aminoácidos. Em seguida, utilizando-se como um grupo doador de metilo + enzima transmetilase, o  $\text{CH}_3\text{Hg}$  complexo é separado (Figura 2.7).



**Figura 2.7** - Formação do metilmercúrio por bactérias aeróbicas (Fonte: Olivero & Jonhson, 2002).

Diante das inúmeras ligações que o mercúrio pode fazer, destaca-se sua alta afinidade com o enxofre, o que resulta em forte ligação covalente. Deste modo, quando o enxofre está presente como grupo sulfidrila de proteínas, o mercúrio divalente substitui o átomo de hidrogênio formando os chamados mercaptans do tipo  $\text{X-Hg-SR}$  e  $\text{Hg-SR}$ , onde se considera X como um grupo eletronegativo como o enxofre (S) e R um aminoácido como a Cisteína, diferentemente dos mercuriais orgânicos que formam ligações do tipo  $\text{R-Hg-Sr}$  (Morel et al., 1998; Olivero & Jonhson, 2002).

Conforme Bisinoti (2005), este metal apresenta seu maior potencial de toxicidade na forma orgânica, pois possui elevada estabilidade e é solúvel em lipídios, além de possuir características iônicas que lhe tornam capaz de permear as membranas celulares dos organismos vivos, resultando no processo de bioacumulação nos tecidos destes organismos, bem como na biomagnificação (ou magnificação trófica) desta contaminação nos indivíduos dos níveis mais elevados da cadeia (Rodrigues et al., 2010). Nesse contexto, a respeito dos mecanismos, Olivero & Jonhson (2002) consideram os mecanismos de entrada e toxicologia do mercúrio nos compostos orgânicos mercuriais, os quais podem inativar enzimas, principalmente as que possuem grupo sulfidril, interrompendo no metabolismo e funcionamento.

### 2.13. Ciclo global do mercúrio

O mercúrio é naturalmente mobilizado de reservatórios na Terra para a atmosfera através de atividades vulcânicas e geológicas (Selin, 2009), sendo as principais fontes naturais de emissão, a degaseificação da crosta terrestre, as emissões vulcânicas e os corpos d'água (Nriagu et al., 1992).

De um modo geral, as formas gasosas estão sujeitas a longos transportes, no qual o mercúrio elementar (gasoso)  $Hg^0$  é oxidado e conseqüentemente transformado em íon mercúrico  $Hg^{2+}$ , o qual, devido a sua alta solubilidade em relação ao  $Hg^0$ , pode ser depositado na superfície terrestre em uma escala local, regional e global, nas interfaces ar/água, ar/solo e também na vegetação, seja por via úmida ou seca (Magarelli, 2006; Schroeder & Munthe, 1998). Para Magarelli (2006) e Morel et al. (1998), as espécies de  $Hg^{2+}$  ou  $Hg^0$  podem ser incorporadas às partículas de aerossol por adsorção, onde o retorno do mercúrio da atmosfera para a superfície da Terra ocorrerá principalmente através da precipitação do  $Hg(II)$  dissolvido. Em síntese, Schroeder & Munthe (1998) entendem como característica do mercúrio no momento em que se incorpora nas superfícies, ser remobilizado quando as espécies oxidadas forem reduzidas a  $Hg^0$ , seja por processos químicos, fotoquímicos e/ou biológicos.

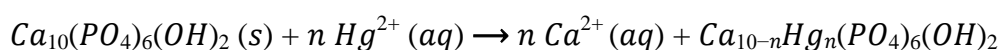
Nesse contexto, Morel et al. (1998) ressaltam que uma vez oxidado, 60% do mercúrio atmosférico será depositado na superfície sólida terrestre e 40% na água; logo, apesar da superfície sólida representar apenas 30% da superfície terrestre, a maior proporção de emissão de  $Hg$  nesse ambiente pode ser entendida pela proximidade das fontes emissores, uma vez que a precipitação da água é três vezes menor em terra do que oceanos.

Diante das considerações acima feitas, torna-se importante exemplificar o entendimento da representação do mercúrio em três de muitas outras situações de sua dinâmica no ciclo biogeoquímico. Para isso, tomam-se como base os estudos de Morel et al. (1998), Souza (2015), Magarelli (2006).

Em síntese, observa-se nos corpos d'água, principalmente nas águas oceânicas, em que após ocorrer um conjunto de transformações de origem biológica, a maior parte do  $Hg^{2+}$  é reduzida para  $Hg^0$ , voltando assim à atmosfera. Já nos lagos, os principais mecanismos de perda de mercúrio acontecem na sedimentação e evasão dos gases. Ainda, pode-se dizer que comparado ao fluxo atmosférico, pouco mercúrio é transportado pelos rios (Morel et al., 1998).

Com relação à relevância do solo para o ciclo do mercúrio, Marigelli (2006) o considera como um geoquímico isolador, isto é, encontra-se entre a litosfera e atmosfera, ressaltando que é nesse ambiente que se encontra o mercúrio antrópico (90-95%) que será liberado para a atmosfera. Em síntese, o autor considera que a grande parte do mercúrio estará presente nesse ambiente na forma inorgânica e em compostos orgânicos não voláteis (adsorção de  $Hg^{2+}$ ), os quais, através dos processos de lixiviação e erosão poderão ser transferidos para água e sedimentos de ambientes marinhos e de água doce. Logo após poderá ocorrer a metilação ou desmetilação do mercúrio, que conforme Bisinoti & Jardim (2004), são processos que fomentarão a bioacumulação dos organismos, sendo progressiva ao longo da cadeia alimentar em magnificação.

Um ponto importante a ser considerado é o da dinâmica deste elemento no solo, onde em situações específicas o processo de Sorção de Mercúrio (Souza, 2015; Tan et al., 2016) tem implicações que precisam de um melhor entendimento, tanto para a dinâmica biogeoquímica e a contaminação natural de Hg em animais pretéritos quanto para a diagênese durante a fossilização. A Sorção de Mercúrio pode ser entendida na razão da troca iônica entre o Cálcio e o Mercúrio que experimentalmente é provado ocorrer com a hidroxioapatita (Souza, 2015). Esse fenômeno também é descrito em moluscos que têm em suas conchas (carbonato) a substituição dos íons de Cálcio ( $Ca^{2+}$ ) por  $Hg^{2+}$  (Brown et al., 2005). Vide a equação 5 no qual a cada íon de  $Ca^{2+}$  trocado um íon de  $Hg^{2+}$  é incorporada a hidroxioapatita.

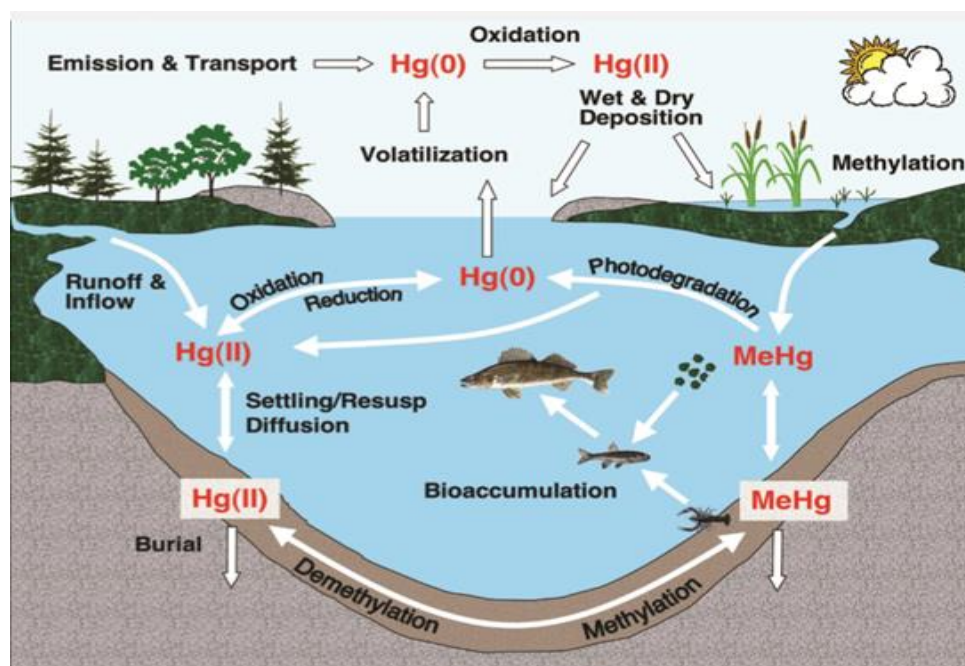


**Equação 5.**

Observe na equação 5, a cada íon de  $Ca^{2+}$  trocado um íon de  $Hg^{2+}$  acaba sendo incorporado à hidroxioapatita (Souza, 2015).

Por fim, Marigelli (2006), Schroeder & Munthe (1998) compreendem a deposição do mercúrio na superfície de plantas, no entendimento que este elemento pode ser assimilado pelos tecidos vegetais, assim como, quando acumulado na superfície foliar, pode ser levado pela água da chuva enriquecendo desta forma a serrapilheira e o solo de floresta. Deste modo, a rota deste elemento pode ser observada na precipitação da atmosfera, deposição na vegetação e conseqüentemente solo, seguido

de sua lixiviação para o fim de corpos d'água. Ainda existe a possibilidade do vegetal por assim dizer, o mercúrio retornar diretamente para atmosfera através das queimadas, que normalmente são potencializadas pela ação antrópica. Para Steffan et al. (2003), o ciclo é completado pelas rotas de precipitação, bioconversão em formas voláteis ou solúveis, reinteração deste na atmosfera ou bioacumulação na cadeia alimentar aquática ou terrestre. O ciclo global do mercúrio é representado na Figura 2.8.



**Figura 2.8** - Ciclo do mercúrio em um lago e sua bacia hidrográfica. Abreviações: Hg (0) mercúrio em sua forma elementar; Hg(II) mercúrio divalente; MeHg metilmercúrio. Retirado de Engstrom (2008) Método analítico em espectroscopia de absorção atômica

De acordo com Apostoli (1998) e Moreira et al. (2002) o desenvolvimento instrumental analítico tem contribuído para identificação de formas químicas tóxicas e para o entendimento dos mecanismos de ação dos metais em organismos.

Com base em Guilhen et al. (2009), a escolha da técnica analítica a ser aplicada deve antes de tudo considerar a natureza da amostra (a matriz) e o teor de mercúrio que pretende quantificar.

Deste modo, as principais técnicas e/ou métodos analíticos para detecção e quantificação de mercúrio são: o método Calorimétrico, a Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GV-AAS), a Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor Frio (CV-AAS), a Espectrometria de Absorção Atômica Zeeman (ZAAS), além das técnicas de análise por Ativação Neutrônica e Cromatografia Gasosa. Observe na Tabela 2.5 as técnicas analíticas frequentemente mais utilizadas para determinação da concentração de Hg e seus limites de detecção.

**Tabela 2.5** - Métodos mais frequentes utilizados para quantificação de mercúrio e seu limite de detecção. Modificado de Micaroni et al. (2000).

<b>Método</b>		<b>Limite de Detecção Relatado</b>
<b>Método Calorimétrico</b>		0,01-0,1 µg/g
<b>Espectrometria de Absorção Atômica:</b>	Com Efeito Zeeman (ZAAS HFM)	2 ng/m <sup>3</sup>
	Forno de grafite (GF AAS0)	1 ng/g
	Vapor frio (CVAAS)	0,01-1 ng/g
<b>Espectrometria de Fluorescência Atômica:</b> (CVAFS)	Vapor frio	0,001-0,01 ng/g
<b>Análise por Ativação com Nêutrons:</b> (INAA)	Instrumental	1-10 ng/g
	Radioquímica (RNAA)	0,01-1 ng/g
<b>Cromatografia Gasosa:</b> Eletrônica	Detector de Captura	0,01-0,05 ng/g
	Detector de Emissão Atômica	~ 0,05 ng/g
	CVAAS / CVAFS	0,01-0,05 ng/g
<b>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência:</b>	Detector de Ultra-violeta	1 ng/mL
	CVAAS	0,5 ng/mL
	CVAFS	0,08 ng/mL
	Eletroquímico	0,1-1 ng/mL
<b>Plasma Acoplado Indutivamente:</b>	Espectrometria de Massa (ICP MS)	0,01 ng/mL
	Espectrometria de Emissão Atômica (ICP AES)	2 ng/mL
<b>Espectrometria Fotoacústica</b>		0,05 ng
<b>Fluorescência de Raio X</b>		5 ng/g - 1µg/g
<b>Métodos Eletroquímicos</b>		0,1-1 µg/g
<b>Analizador de Filme de Ouro</b>		0,05 µg/g

Entre as técnicas instrumentais citadas, a espectrometria de absorção atômica (AAS) é amplamente utilizada na análise de elementos traços nas mais variadas matrizes, uma vez que é específica, altamente sensível, rápida e confiável, além de possibilitar a análise direta de amostras (Tsalev & Zaporinov, 1985; Welz, 1999; Moreira et al., 2011).

No presente estudo, para a aferição dos valores de mercúrio nos fósseis em seus tecidos biomineralizados (ossos, dentes, placas dérmicas, escamas e casca de ovo) foi utilizado o Analisador Zeeman Portátil de Mercúrio, modelo RA-915+, da Ohio Lumex®, devido a sua confiabilidade, praticidade de utilização e aplicabilidade a diversas matrizes (sólido, líquido, gasoso) (OHIO LUMEX Co., 2012; Sholupov et al., 2004; Rodriguez, 2009). Este equipamento tem seu princípio de funcionamento baseado na espectrometria de absorção atômica Zeeman (Sholupov et al., 2004), sendo bastante

utilizado por estudos que buscam compreender a dinâmica do Hg em paleoecossistemas de outros períodos geológicos, uma vez que a praticidade analítica e a não necessidade de pré-tratamento por solventes são características adequadas a esse tipo de estudo, que utilizam materiais antigos e sensíveis a alterações químicas (e.g. Fonte et al., 2016; Percival et al., 2017; Cardia et al., 2018).

A espectrometria de absorção atômica Zeeman (Hadeishi, 1975; Koizumi & Yasuda, 1976; Sholupov et al., 2004; Revalde et al., 2015) pode ser descrita como um sistema de correção fundo que se utiliza do efeito Zeeman (Boch, 1957; Fernandez et al., 1980; Welz, 1999) ou seja, a aplicação de um campo magnético externo nas linhas espectrais emitidas pelos átomos analisados, uma vez que a absorção medida é feita apenas sobre intervalos espectrais estreitos, correspondentes à largura da linha atômica emitida pela fonte de radiação (elemento químico específico), o que restringe a informação disponível sobre o ambiente espectral. Logo, a absorção medida na linha analítica, pode ser causada não apenas por átomos, mas também por moléculas (que absorvem radiação) e partículas (que espalham radiação) provenientes da matriz, o chamado fundo (Borges et al., 2005). Deste modo, o efeito Zeeman permite o desdobramento das linhas atômicas corrigindo a radiação de fundo e evitando a interferência espectral.

Ressalta-se a diferença entre os efeitos Zeeman normal e anômalo, cujo primeiro é relacionado para átomos com o Spin eletrônico total nulo e momento angular total igual momento angular orbital, sendo as linhas de emissão divididas em múltiplos, dos quais as características dependem principalmente do elemento químico (por exemplo, o elemento mercúrio tem suas linhas de emissão emitidas em tripletos) e campo magnético. Já para o efeito anômalo, o Spin eletrônico total não é nulo, sendo as linhas de emissão decompostas em multipletos de estrutura mais complexa, uma vez que o Spin se acopla ao campo magnético (Unno, 1956, Hadeish & McLaughlin, 1971; Santos, 2012).

No caso da espectrometria de absorção atômica Zeeman Ra 915+, aqui utilizada para a determinação de HgT em amostras fósseis, o princípio de funcionamento é baseado no efeito Zeeman normal que considera, a partir de uma fonte de radiação (uma lâmpada de mercúrio), a divisão da linha de ressonância do mercúrio ( $\lambda=254\text{nm}$ ) em três componentes ( $\pi, \sigma-, \sigma+$ ). Ao longo das linhas do campo magnético, apenas a radiação dos componentes  $\sigma$  serão registradas, no qual um componente passará dentro de uma célula analítica e outro fora. Esta célula analítica armazena o vapor de mercúrio

resultante da pirólise da matriz analítica a 800°. Logo, na ausência de mercúrio, a intensidade de ambos os componentes  $\sigma$  será igual e caso haja átomos desse elemento na célula analítica, será diferente, uma vez que os átomos causam uma diferença proporcional na intensidade dos componentes, o que possibilita posteriormente a construção de uma resposta de sinal analítico em concentração. O conteúdo de Hg na amostra é determinado a partir da curva de calibração da quantidade absoluta de Hg ( $\text{ng.g}^{-1}$ ) em relação ao sinal analítico integrado (OHIOLUMEXco., 2012; Pachinev & Pachineva, 2015).

## 2.14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albaréde, F., Cambridge., 2009. *Geochemistry – An Introduction*, 2nd ed. Cambridge University Press.
- Allègre, C.J., 2008. Isotope geology, *Isotope Geology*. doi:10.1017/CBO9780511809323
- Ambrose, S.H. 1993. Isotopic analysis of paleodiets: methodological and interpretive considerations. In: Sandford, M.K. (Ed.). *Investigations of Ancient Human Tissue*. Gordon and Breach. 59–130
- Ambrose, S.H., Norr, L., 1993. Experimental Evidence for the Relationship of the Carbon Isotope Ratios of Whole Diet and Dietary Protein to Those of Bone Collagen and Carbonate, in: *Prehistoric Human Bone: Archaeology at the Molecular Level*. doi:10.1007/978-3-662-02894-0
- Ambrose, S.H., Butler, B.M., Hanson, D.B., Hunter-Anderson, R.L., Krueger, H.W., 1997. Stable isotopic analysis of human diet in the Marianas Archipelago, western Pacific. *Am. J. Phys. Anthropol.* [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199711\)104:3<343::AID-AJPA5>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199711)104:3<343::AID-AJPA5>3.0.CO;2-W)
- Ambrose, S.H., Krigbaum, J., 2003. Bone chemistry and bioarchaeology. *J. Anthropol. Archaeol.* doi:10.1016/S0278-4165(03)00033-3
- Amiot, R., Buffetaut, E., Lécuyer, C., Wang, X., Boudad, L., Ding, Z., Fourel, F., Hutt, S., Martineau, F., Medeiros, M.A., Mo, J., Simon, L., Suteethorn, V., Sweetman, S., Tong, H., Zhang, F., Zhou, Z., 2010. Oxygen isotope evidence for semi-aquatic habits among spinosaurid theropods. *Geology* 38, 139–142. doi:10.1130/G30402.1
- Apostoli, P., 1998. La speciazione dei metalli in medicina del lavoro. *Occupational Health and Indust. Med.*, v. 1, n. 35, p. 9-10
- Ason, B. & Moore, C.B., 1982. *Principles of Geochemistry*. 4th ed. John Wiley & Sons. 344pp,
- Aubail, A., Dietz, R., Rigét, F., Sonne, C., Wiig, Ø., Caurant, F., 2012. Temporal trend of mercury in polar bears (*Ursus maritimus*) from Svalbard using teeth as a biomonitoring tissue. *J. Environ. Monit.* 14, 56–63. doi:10.1039/C1EM10681C
- Atwell, L., Hobson, K. a, Welch, H.E., 1998. Biomagnification and bioaccumulation of mercury in an arctic marine food web: Insights from stable nitrogen isotope analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* doi:10.1139/cjfas-55-5-1114



- Azevedo, F.A., São Paulo., 2003. Toxicologia do Mercúrio. RiMa, InterTox.
- Barbosa, J.N., MG., 2012. Isótopos estáveis para discriminação da origem geográfica de cafés especiais da serra da mantiqueira de Minas Gerais. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal), Programa de Pós-graduação em Agronomia, Universidade Federal de Lavras
- Bastos, M.Q.R., Brasília., 2014. Dos sambaquis do sul do Brasil à diáspora africana: Estudos de geoquímica isotópica de séries esqueléticas humanas escavadas em sítios arqueológicos brasileiros. Tese (Doutorado em Geociências) – Programa de Pós-graduação em Geociências, Instituto de Geociências, Universidade de Brasília.
- Bentley, R.A., 2006. Strontium isotopes from the earth to the archaeological skeleton: A review. *J. Archaeol. Method Theory*. doi:10.1007/s10816-006-9009-x
- Bisinoti, M.C., Jardim, W.F., 2004. O comportamento do metilmercúrio (METILHg) no ambiente, in: *Quimica Nova*. pp. 593–600. doi:10.1590/S0100-40422004000400014
- Bisinoti, M. C., 2005. Biogeoquímica aquática do mercúrio orgânico na Bacia do Rio Negro, Amazônia. - Campinas: [s.n.], - 183. - Tese de Doutorado – IQUNICAMP
- Bocherens, H., Fizet, M., Mariotti, A., 1994. Diet, physiology and ecology of fossil mammals as inferred from stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry: implications for Pleistocene bears. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 107, 213–225. doi:10.1016/0031-0182(94)90095-7
- Borges, D.L.G., Curtius, A.J., Welz, B., Heitmann, U., 2005. Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua. *Rev. Anal.* 1, 58–67.
- Bender, M.M., 1971. Variations in the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios of plants in relation to the pathway of carbon dioxide fixation. *Phytochemistry (Oxf.)* 10, 1239–1244.
- Brown, M.E., Kowalewski, M., Neves, R.J., Cherry, D.S., Schreiber, M.E., 2005. Freshwater mussel shells as environmental chronicles: Geochemical and taphonomic signatures of mercury-related extirpations in the North Fork Holston River, Virginia. *Environ. Sci. Technol.* 39, 1455–1462. doi:10.1021/es048573p
- Brunet, M., T., M.P.F., 2000. Chad: Discovery of a Vertebrate Fauna Close to the Mio-Pliocene Boundary. *J. Vertebr. Paleontol.* [https://doi.org/10.1671/0272-4634\(2000\)020\[0205:CDOAVF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1671/0272-4634(2000)020[0205:CDOAVF]2.0.CO;2)

- Bryant, J.D., Koch, P.L., Froelich, P.N., Showers, W.J., Genna, B.J., 1996. Oxygen isotope partitioning between phosphate and carbonate in mammalian apatite. *Geochim. Cosmochim. Acta.* doi:10.1016/S0016-7037(96)00308-0
- Capo, R.C., Stewart, B.W., Chadwick, O.A., 1998. Strontium isotopes as tracers of ecosystem processes: Theory and methods. *Geoderma* 82, 197–225. doi:10.1016/S0016-7061(97)00102-X
- Cardia, F. M. S., Santucci, R. M., Bernardi, J. V. E., de Andrade, M. B., & de Oliveira, C. E. M., 2018. Mercury concentrations in terrestrial fossil vertebrates from the Bauru Group (Upper Cretaceous), Brazil and implications for vertebrate paleontology. *Journal of South American Earth Sciences.*
- Carvalho, I.S., 2010. *Paleontologia: conceitos e métodos*, v1, 3ed, Editora Interciência,
- Cabana, G., Tremblay, A., Kalff, J., Rasmussen, J.B., 1994. Pelagic food chain structure in Ontario lakes: a determinant of mercury levels in lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* doi:10.1139/f94-039
- Candeiro, C.R.A., Martinelli, A.G., Avilla, L.S., Rich, T.H., 2006. Tetrapods from the Upper Cretaceous (Turonian-Maastrichtian) Bauru Group of Brazil: a reappraisal. *Cretac. Res.* 27, 923–946. doi:10.1016/j.cretres.2006.05.002
- Candeiro, C.R.A., Rich, T., 2010. Overview of the Late Cretaceous Biota of the western São Paulo State, Brazil, Bauru Group. *J. South Am. Earth Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.jsames.2009.08.001>
- Cerling, T.E., Harris, J.M., Macfadden, B.J., Leakey, M.G., Quadek, J., Eisenmann, V., Ehleringer, J.R., 1997. Global vegetation change through the Miocene / Pliocene boundary. *Nature* 389, 153–158.
- Cerling, T.E., Harris, J.M., 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia* 120, 347–363. doi:10.1007/s004420050868
- Clarkson, T.W., Magos, L., 2006. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* doi:10.1080/10408440600845619
- Currey, J.D., 2004. Tensile yield in compact bone is determined by strain, post-yield behaviour by mineral content. *J. Biomech.* 37, 549–556. doi:10.1016/j.jbiomech.2003.08.008
- Criss, R.E., 1999. *PRINCIPLES of STABLE ISOTOPE DISTRIBUTION*, Oxford University Press, Inc.

- Da Silva, T.F., Penna, A.L.B., 2012. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. *Rev Inst Adolfo Lutz* 71, 530–539.
- Dawson, T.E., Siegwolf, R.T.W., 2007. Stable isotopes as indicators of ecological change, *Stable isotopes as indicators of ecological change*. doi:10.1016/S1936-7961(07)01012-3
- DeNiro, M.J., Epstein, S., 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta* 45, 341–351. doi:10.1016/0016-7037(81)90244-1
- Dennis, K J.; Schrag, D P., 2010. Clumped isotope thermometry of carbonatites as an indicator of diagenetic alteration. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 74, n. 14, p. 4110–4122
- De Laeter, J.R., Bohlke, J.K., De Bièvre, P., Hidaka, H., Peiser, H.S., Rosman, K.J.R., Taylor, P.D.P., 2003. Atomic weights of the elements: review 2000 (IUPAC) Technical Report, *Pure Appl. Chem.* 75, 683
- Eagle, R.A., Tütken, T., Martin, T.S., Tripathi, A.K., Fricke, H.C., Connely, M., Cifelli, R.L., Eiler, J.M., 2011. Dinosaur body temperatures determined from isotopic ( $^{13}\text{C}$ - $^{18}\text{O}$ ) ordering in fossil biominerals. *Science* (80). 333, 443–445. doi:10.1126/science.1206196
- Engel, M.H., 2015. Impact of prebiotic synthesis and diagenesis on the distribution, stereochemistry, and stable isotope composition of amino acids in carbonaceous meteorites. *Proc. SPIE*. <https://doi.org/10.1117/12.2022753>
- Engstrom, D. R., 2007. Fish respond when the mercury rises. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(42), 16394-16395.
- Ericson, J.E., 1985. Strontium isotope characterization in the study of prehistoric human ecology. *J. Hum. Evol.* 14, 503–514. [https://doi.org/10.1016/S0047-2484\(85\)80029-4](https://doi.org/10.1016/S0047-2484(85)80029-4)
- Falandysz, J., 2002. Mercury in mushrooms and soil of the Tarnobrzaska Plain, south-eastern Poland. *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.* <https://doi.org/10.1081/ESE-120002833>
- Faure, G. 1986. *Principles of Isotope Geology*. Willey ed.. 608pp.
- Faure, G. and Teresa, M., 2005. *Mensing. Isotopes: principles and applications*. John Wiley & Sons Inc.
- Fernandes, L.A., SP., 1998. *Estratigrafia e evolução geológica da parte oriental da Bacia Bauru (Ks, Brasil)*. 216 p. Tese (Doutorado em Geociências) - Programa de

Pós-Graduação em Geologia Sedimentar, Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.

- Fernandez, F.J., Myers, S.A., Slavin, W., 1980. Background Correction in Atomic Absorption Utilizing the Zeeman Effect. *Anal. Chem.* 52, 741–746. doi:10.1021/ac50054a033
- Ferreira, A. I. J.V., Lisboa., 2008. Espectrometria de massa de razões isotópicas. Lisboa, 31pp. Tese (Doutorado em Química).
- Font, E., Adatte, T., Sial, A.N., de Lacerda, L.D., Keller, G., Punekar, J., 2016. Mercury anomaly, deccan volcanism, and the end-cretaceous mass extinction. *Geology* 44, 171–174. doi:10.1130/G37451.1
- Fostier, A.H., Forti, M.C., Guimarães, J.R.D., Melfi, A.J., Boulet, R., Espirito Santo, C.M., Krug, F.J., 2000. Mercury fluxes in a natural forested Amazonian catchment (Serra do Navio, Amapa State, Brazil). *Sci. Total Environ.* [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(00\)00564-7](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00564-7)
- France, R.L., 1995. Differentiation between littoral and pelagic food webs in lakes using stable carbon isotopes. *Limnol. Oceanogr.* <https://doi.org/10.4319/lo.1995.40.7.1310>
- Fricke, H., 2007. Stable isotope geochemistry of bonebed fossils: reconstructing paleoenvironments, and paleobiology, in: *Bonebeds: Genesis, Analysis, and Paleobiological Significance.* p.499. <https://doi.org/10.7208/chicago/9780226723730.001.0001>
- Fricke, H.C., Rogers, R.R., Backlund, R., Dwyer, C.N., Echt, S., 2008. Preservation of primary stable isotope signals in dinosaur remains, and environmental gradients of the Late Cretaceous of Montana and Alberta. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 266, 13–27. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2008.03.030>
- Fricke, H.C., Pearson, D. a., 2008. Stable isotope evidence for changes in dietary niche partitioning among hadrosaurian and ceratopsian dinosaurs of the Hell Creek Formation, North Dakota. *Paleobiology.* <https://doi.org/10.1666/08020.1>
- Fry, B., 1991. Stable Isotope Diagrams of Freshwater Food Webs. *Ecology* 72, 2293–2297. <https://doi.org/10.2307/1941580>
- Garvie-Lok, S.J., Varney, T.L., Katzenberg, M.A., 2004. Preparation of bone carbonate for stable isotope analysis: The effects of treatment time and acid concentration. *J. Archaeol. Sci.* 31, 763–776. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2003.10.014>

- Goedert, J., Amiot, R., Boubad, L., Buffetaut, E., Fourel, F., Godefroit, P., Kusuhashi, N., Suteetorn, V., Tong, H., Watabe, M., Lécuyer, C., 2016. Preliminary Investigation of seasonal patterns record in the oxygen isotope compositions of theropod dinosaur tooth enamel Palaios. <https://doi.org/10.2110/palo.2015.018>
- Guedes, J A., 2012. Geoquímica e meio Ambiente. Revista Geotemas, v. 2, n. 1, p. 145-151.
- Guilhen, S.N., Pires, M.A.F., Dantas, E.S.K., Xavier, F.V., 2010. Validação de metodologia analítica para determinação de mercúrio total em amostras de urina por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV-AAS). Estudo de caso. Quim. Nova. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000600013>
- Hadeishi, T., 1975. "Zeeman effect absorption spectrometer." U.S. Patent No. 3,914,054. 21 Oct. 1975.
- Hadeishi, T., Mclaughlin, R.D., 1971. Hyperfine Zeeman effect atomic absorption spectrometer for mercury. Science (80-. ). 174, 404–407. doi:10.1126/science.174.4007.404
- Harrell, T.L., Pérez-Huerta, A., Suarez, C.A., 2016. Endothermic mosasaurs? Possible thermoregulation of Late Cretaceous mosasaurs (Reptilia, Squamata) indicated by stable oxygen isotopes in fossil bioapatite in comparison with coeval marine fish and pelagic seabirds. Palaeontology. <https://doi.org/10.1111/pala.12240>
- Hobson, K.A., Alisauskas, R.T., Clark, R.G., 1993. Stable-Nitrogen Isotope Enrichment in Avian Tissues Due to Fasting and Nutritional Stress: Implications for Isotopic Analyses of Diet. Condor 95, 388. <https://doi.org/10.2307/1369361>
- Hillson, S. 1996. Dental Anthropology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Hoefs J. 2004. Stable Isotope in Geochemistry. SpringerVerlag. Germany. 5 ed. 244 p
- Hoefs, J., 2009. Stable Isotope Geochemistry, Stable Isotope Geochemistry.
- Karol, P.J., Barber, R.C., Sherrill, B.M., Vardaci, E., Yamazaki, T., 2016. Discovery of the element with atomic number  $Z = 118$  completing the 7th row of the periodic table (IUPAC Technical Report), in: Pure and Applied Chemistry. <https://doi.org/10.1515/pac-2015-0501>
- Kelley, N. P., Montani, R., Jiang, D.Y., Rieppel, O., Schimtz, L. 2014. "Selective extinction of Triassic marine reptiles during long-term sea-level changes illuminated by seawater strontium isotopes." Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 400, 9-16.

- Kelly, J.F., 2000. Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Can. J. Zool.* 78, 1–27. <https://doi.org/10.1139/z99-165>
- Kendall, C., McDonnell, J.J., *Isotope Tracers in Catchment Hydrology*. Elsevier, Amsterdam, p. 839, 1998.
- Koch, P.L., 2007. Isotopic Study of the Biology of Modern and Fossil Vertebrates. *Stable Isot. Ecol. Environ. Sci.* <https://doi.org/10.1002/9780470691854.ch5>
- Koch, P.L., Tuross, N., Fogel, M.L., 1997. The Effects of Sample Treatment and Diagenesis on the Isotopic Integrity of Carbonate in Biogenic Hydroxylapatite. *J. Archaeol. Sci.* 24, 417–429. <https://doi.org/10.1006/jasc.1996.0126>
- Kohn, M.J., Schoeninger, M.J., Barker, W.W., 1999. Altered states: Effects of diagenesis on fossil tooth chemistry. *Geochim. Cosmochim. Acta* 63, 2737–2747. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(99\)00208-2](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(99)00208-2)
- Koizumi, H., Yasuda, K., 1976. An application of the Zeeman effect to atomic absorption spectrometry: a new method for background correction. *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* 31, 237–255. doi:10.1016/0584-8547(76)80024-9
- Kolodny, Y; Luz, B; Navon, O., 1983. Oxygen isotope variations in phosphate of biogenic apatites, I. Fish bone apatite-rechecking the rules of the game. *Earth and Planetary Science Letters*, 64, n. 3, 398–404.
- Knudson, K.J., Price, T.D., Buikstra, J.E., Blom, D.E., 2004. The use of strontium isotope analysis to investigate Tiwanaku migration and mortuary ritual in Bolivia and Peru. *Archaeometry* 46, 5–18. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2004.00140.x>
- Kragh, H. 2001. From geochemistry to cosmochemistry: the origin of a scientific discipline, 1915–1955. Em: C. Reinhardt (ed.), *Chemical Sciences in the 20th Century*. Wiley, Weinheim
- Patience A.J, Kroon D. 1994. Oxygen Isotope Chronostratigraphy. In: Smart P.L., Frances P.D. (edit.). *Quaternary dating methods – A user’s guide*. Quaternary Research Association. London, Technical Guide N°4, 10:199-228.
- Kvenvolden, K.A., 2008. Origins of organic geochemistry. *Org. Geochem.* 39, 905–909. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2008.02.017>
- Lecuyer, C., Grandjean, P., Sheppard, S.M.F., 1999. Oxygen isotope exchange between dissolved phosphate and water at temperatures  $\leq 135^{\circ}\text{C}$ : Inorganic versus

- biological fractionations. *Geochim. Cosmochim. Acta.*  
[https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(99\)00096-4](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(99)00096-4)
- Lucas, J., Prévôt, L.E., New York., 1991. Phosphates and fossil preservation. In: Allison, P.A., Briggs, D.E.G (Eds.), *Taphonomy: Releasing the Data Locked in the Fossil Record. Topics in Geobiology*, vol. 9. Plenum, pp. 389 – 409.
- Lee-Thorp, J.A., van der Merwe, N.J., 1991. Aspects of the chemistry of modern and fossil biological apatites. *J. Archaeol. Sci.* 18, 343–354.  
[https://doi.org/10.1016/0305-4403\(91\)90070-6](https://doi.org/10.1016/0305-4403(91)90070-6)
- Lee-Thorp, J.A., Sealy, J.C., van der Merwe, N.J., 1989. Stable carbon isotope ratio differences between bone collagen and bone apatite, and their relationship to diet. *J. Archaeol. Sci.* 16, 585–599. [https://doi.org/10.1016/0305-4403\(89\)90024-1](https://doi.org/10.1016/0305-4403(89)90024-1)
- LeGeros, R., 1981. Apatites in biological systems. *Prog. Cryst. Growth Charact.* 4, 1–45. [https://doi.org/10.1016/0146-3535\(81\)90046-0](https://doi.org/10.1016/0146-3535(81)90046-0)
- Lehninger, 2005. *Principios de bioquímica.*, Omega. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-0495-4>
- MacFadden, B.J., Solounias, N., Cerling, T.E., 1999. Ancient diets, ecology, and extinction of 5-million-year-old horses from Florida. *Science* (80). 283, 824–827.  
<https://doi.org/10.1126/science.283.5403.824>
- Macfadden, B.J., Cerling, T.E., 1996. Mammalian herbivore communities, ancient feeding ecology, and carbon isotopes: A 10 million-year sequence from the neogene of Florida. *J. Vertebr. Paleontol.* 16, 103–115.  
<https://doi.org/10.1080/02724634.1996.10011288>
- Makarewicz, C.A., Sealy, J., 2015. Dietary reconstruction, mobility, and the analysis of ancient skeletal tissues: Expanding the prospects of stable isotope research in archaeology. *J. Archaeol. Sci.* 56, 146–158.  
<https://doi.org/10.1016/j.jas.2015.02.035>
- Magarelli, G., 2006. Fluxos de Mercúrio gasoso na interface solo/atmosfera na bacia do Rio Negro utilizando câmaras dinâmicas de fluxo. Tese (Doutorado em Ciências) – Departamento de Química analítica, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Estadual de Campinas.
- Martinelli, L., Ometto, J., Ferraz, E., 2009. Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis, São Paulo, Oficina de Mason, B. and Moore, C.B. (1982). *Principles of Geochemistry.* Wiley & Sons, New York
- Mays S. 1998. *The Archaeology of Human Bones.* Routledge

- Mays, S., 2010. The archaeology of human bones: Second edition, *The Archaeology of Human Bones: Second Edition*. <https://doi.org/10.4324/9780203851777>
- Mesquita Micaroni, R.C.D.C., Silveira Bueno, M.I.M., Jardim, W.D.F., 2000. Compostos de mercúrio. Revisão de métodos de determinação, tratamento e descarte. *Quim. Nova*. doi:10.1590/S0100-40422000000400011
- Minagawa, M., Wada, E., 1984. Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food chains: further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochim. Cosmochim. Acta* 48, 1135–1140. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0016-7037\(84\)90204-7](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/0016-7037(84)90204-7)
- Miller, K.G., Fairbanks, R.G., Mountain, G.S., 1987. Tertiary oxygen isotope synthesis, sea level history, and continental margin erosion. *Paleoceanography* 2, 1–19. <https://doi.org/10.1029/PA002i001p00001>
- Miller, E.K., Blum, J.D., Friedland, A.J., 1993. Determination of soil exchangeable cation loss and weathering rates using Sr isotopes. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/362438a0>
- Moreira, F.R., Moreira, J.C., Pivetta, F., Coutada, L., 2002. Influence of the platform geometry on lead determination in zidovudine (AZT) by electrothermal atomic absorption spectrophotometry. *Quim. Nova* 25, 379–383.
- Morel, F.M.M., Kraepiel, A.M.L., Amyot, M., 1998. The Chemical Cycle and Bioaccumulation of Mercury. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.543>
- Nelson, B.K., Deniro, M.J., Schoeninger, M.J., De Paolo, D.J., Hare, P.E., 1986. Effects of diagenesis on strontium, carbon, nitrogen and oxygen concentration and isotopic composition of bone. *Geochim. Cosmochim. Acta* 50, 1941–1949. [https://doi.org/10.1016/0016-7037\(86\)90250-4](https://doi.org/10.1016/0016-7037(86)90250-4)
- Nier, A.O., 1950. A redetermination of the relative abundances of the isotopes of carbon, nitrogen, oxygen, argon, and potassium. *Phys. Rev.* 77, 789–793. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.77.789>
- Nriagu, J.O., Pfeiffer, W.C., Malm, O., Magalhaes de Sousa, C.M., y Mierle, G. (1992). Mercury pollution in Brazil. *Nature*. 356(6368):389.
- Ohio Lumex. 2012. Mercury Analyzer RA-915+ User's Manual. Twinsburg, OH: Ohio Lumex Company Inc. 22p.



- O'Leary, M.H., Madhavan, S., Paneth, P., 1992. Physical and Chemical Basis of Carbon Isotope Fractionation in Plants. *Plant Cell Environ.* 15, 1099–1104. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1992.tb01660.x>
- Olivero, J., & Johnson, B. (2002). El lado gris de la minería del oro: La contaminación con mercurio en el norte de Colombia. Universidad de Cartagena, Cartagena DC, Colombia.
- Panichev, N.A., Panicheva, S.E., 2015. Determination of total mercury in fish and sea products by direct thermal decomposition atomic absorption spectrometry. *Food Chem.* 166, 432–441. doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.032
- Pasteris, J.D., Wopenka, B., Valsami-Jones, E., 2008. Bone and tooth mineralization: Why apatite? *Elements* 4, 97–104. <https://doi.org/10.2113/GSELEMENTS.4.2.97>
- Percival, L.M.E., Ruhl, M., Hesselbo, S.P., Jenkyns, H.C., Mather, T.A., Whiteside, J.H., 2017. Mercury evidence for pulsed volcanism during the end-Triassic mass extinction. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, 7929–7934. doi:10.1073/pnas.170537811
- Pereira, M., B., B., AGO. 2014. “Hidroxiapatita como sistema para liberação de Ibuprofeno” Dissertação de Mestrado – UFPB.
- Peterson, B.J., Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18, 293–320. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.18.110187.001453>
- Ponciano, C. R., 1996. Desenvolvimento de espectrômetros de massa por tempo de voo para PDMS e MALDI: aplicações de PDMS em compostos não voláteis. Dissertação (Mestrado). Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro.216p
- Post, D.M., 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. *Ecology* 83, 703–718. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2002\)083\[0703:USITET\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083[0703:USITET]2.0.CO;2)
- Porder, S., Paytan, A., Hadly, E.A., 2003. Mapping the origin of faunal assemblages using strontium isotopes. *Paleobiology* 29, 197–204. <https://doi.org/10.1017/S0094837300018066>
- Price, T.D., Burton, J.H., Bentley, R.A., 2002. The Characterization of Biologically Available Strontium Isotope Ratios for the Study of Prehistoric Migration. *Archaeometry* 44, 117–135. <https://doi.org/10.1111/1475-4754.00047>
- Price, T.D., Burton, J.H., 2011. An introduction to archaeological chemistry, *An Introduction to Archaeological Chemistry*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6376-5>

- Quade, J., Cerling, T.E., Barry, J.C., Morgan, M.E., Pilbeam, D.R., Chivas, A.R., Lee-Thorp, J.A., van der Merwe, N.J., 1992. A 16-Ma record of paleodiet using carbon and oxygen isotopes in fossil teeth from Pakistan. *Chem. Geol.* 94, 183–192. [https://doi.org/10.1016/S0009-2541\(10\)80003-8](https://doi.org/10.1016/S0009-2541(10)80003-8)
- Rasmussen, K.L., Kučera, J., Skytte, L., Kameník, J., Havránek, V., Smolík, J., Velemínský, P., Lynnerup, N., Bruzek, J., Vellej, J., 2013. Was He Murdered Or Was He Not?-Part I: Analyses of Mercury in the Remains of Tycho Brahe. *Archaeometry* 55, 1187–1195. <https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2012.00729.x>
- Revalde, G., Sholupov, S., Ganeev, A., Pogarev, S., Ryzhov, V., Skudra, A., 2015. Use of radiation sources with mercury isotopes for real-time highly sensitive and selective benzene determination in air and natural gas by differential absorption spectrometry with the direct Zeeman effect. *Anal. Chim. Acta* 887, 172–178. doi:10.1016/j.aca.2015.07.021
- Reynard, B; Balter, V. Trace elements and their isotopes in bones and teeth: Diet, environments, diagenesis, and dating of archeological and paleontological samples.
- Rigo, E.C.S., Oliveira, L.C., R.G, C., Santos, L. a., Bosch, a. O., 1999. Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita. *Rev. Bras. Eng. Biomédica*.
- Rodrigues, G.B., Fauth, G., 2013. Isótopos estáveis de carbono e oxigênio em ostracodes do Cretáceo: metodologias, aplicações e desafios. *Terrae Didat.* pp 34-49
- Rosman, K.J.R., Taylor, P.D.P., 1998. Isotopic compositions of the elements 1997. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* <https://doi.org/10.1063/1.556031>
- Rohde, G. M. A., 2004. Geoquímica ambiental. In: *Geoquímica ambiental e estudos de Impacto*. 2 ed. São Paulo: Signus. 36-45.
- Rodrigues, A.P. de C., Carvalheira, R.G., Cesar, R.G., Bidone, E.D., Castilhos, Z.C., Almosny, N.R.P., 2010. Bioacumulação de Mercúrio em Quatro Espécies de Peixes Tropicais Oriundos de Ecossistemas Estuarinos do Estado do Rio de Janeiro. *Anuário do Inst. Geociências*.
- Rodrigues, G.B., Fauth, G., 2013. Isótopos estáveis de carbono e oxigênio em ostracodes do Cretáceo: metodologias, aplicações e desafios. *Terrae Didat*.
- Rogers, K.D., Zioupos, P., 1999. Bone tissue of the rostrum of a *Mesoplodon densirostris* whale: A mammalian biomineral demonstrating extreme texture. *J. Mater. Sci. Lett.* <https://doi.org/10.1023/A:1006615422214>

- Rountrey, A. N. Life histories of juvenile woolly mammoths from Siberia: Stable isotope and elemental analysis of tooth dentin (Doctoral dissertation, 2009, University of Michigan).
- Rounick, J.S., Winterbourn, M.J., 1986. Stable Carbon Isotopes and Carbon Flow in Ecosystems. *Bioscience*. <https://doi.org/10.2307/1310304>
- Santos, W.O et al., 2012. Efeito Zeeman anômalo para o átomo de hidrogênio no espaço não comutativo.
- Satoh, H., 2000. Occupational and environmental toxicology of mercury and its compounds. *Ind. Health*. <https://doi.org/10.2486/indhealth.38.153>
- Schoeninger, M.J., Deniro, M.J., 1983. Carbon isotope ratios of bone apatite and animal diet reconstruction (reply). *Nature*. <https://doi.org/10.1038/301178a0>
- Schoeninger, M.J., 1985. Trophic level effects on  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios in bone collagen and strontium levels in bone mineral. *J. Hum. Evol.* [https://doi.org/10.1016/S0047-2484\(85\)80030-0](https://doi.org/10.1016/S0047-2484(85)80030-0)
- Schoeninger, M.J., DeNiro, M.J., 1982. Carbon isotope ratios of apatite from fossil bone cannot be used to reconstruct diets of animals. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/297577a0>
- Schroeder, W.H., Munthe, J., Lindqvist, O., 1989. Cycling of mercury between water, air, and soil compartments of the environment. *Water. Air. Soil Pollut.* <https://doi.org/10.1007/BF00283335>
- Schroeder, W.H., Munthe, J., 1998. Atmospheric mercury - An overview, in: *Atmospheric Environment*. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(97\)00293-8](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(97)00293-8)
- Selin, N.E., 2009. Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annu. Rev. Environ. Resour.* <https://doi.org/10.1146/annurev.enviro.051308.084314>
- Steffen, A., Schroeder, W., Bottenheim, J., Narayan, J., Fuentes, J.D., 2002. Atmospheric mercury concentrations: Measurements and profiles near snow and ice surfaces in the Canadian Arctic during Alert 2000, in: *Atmospheric Environment*. pp. 2653–2661. doi:10.1016/S1352-2310(02)00112-7
- Sholupov, S., Pogarev, S., Ryzhov, V., Mashyanov, N., Stroganov, A., 2004. Zeeman atomic absorption spectrometer RA-915+ for direct determination of mercury in air and complex matrix samples, in: *Fuel Processing Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2003.11.003>

- Silva, N.M.C.S. Espectrometria de Massa para análise isotópica de Bioelementos. Botucatu, São Paulo. 2009. 16p. Monografia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho.
- Souza, L.M. Estudo da Sorção de Mercurio em Hidroxioapatita, Rio de Janeiro, 2015, 22p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Soares, P.C., Landim, P.M.B., Fúlfaro, V.J., Sobreiro Neto, A.F., 1980. Ensaio de caracterização estratigráfica do Cretáceo no Estado de São Paulo: Grupo Bauru. Rev. Bras. Geociencias.
- Smith, B.N., and Epstein, S., 1971. Two categories of  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios for higher plants. Plant Physiol. 47, 380–384
- Shenker, B.J., Guo, T.L., Shapiro, I.M., 1998. Low-level methylmercury exposure causes human T-cells to undergo apoptosis: Evidence of mitochondrial dysfunction. Environ. Res. <https://doi.org/10.1006/enrs.1997.3816>
- Skinner, H., 2005. Biominerals. Mineral. Mag. 69, 621–641.
- Skoog, D., Holler, F., Nieman, T., 2008. Principios de analisis instrumental, MG Hill. <https://doi.org/10.3989/scimar.2006.70s3269>
- Straight, W.H., Barrick, R.E., Eberth, D.A., 2004. Reflections of surface water, seasonality and climate in stable oxygen isotopes from tyrannosaurid tooth enamel, in: Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology. pp. 239–256. <https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2004.01.006>
- Sullivan, C.H., Krueger, H.W., 1981. Carbon isotope analysis of separate chemical phases in modern and fossil bone. Nature 292, 333–335. <https://doi.org/10.1038/292333a0>
- Tan, G., Sun, W., Xu, Y., Wang, H., Xu, N., 2016. Sorption of mercury (II) and atrazine by biochar, modified biochars and biochar based activated carbon in aqueous solution. Bioresour. Technol. 211, 727–735. doi:10.1016/j.biortech.2016.03.147
- Tarras-Wahlberg, N. H., Flachier, A., Lane, S. N., & Sangfors, O. (2001). Environmental impacts and metal exposure of aquatic ecosystems in rivers contaminated by small scale gold mining: the Puyango River basin, southern Ecuador. Science of the Total Environment, 278(1-3), 239-261.
- Tavares, P.C., Kelly, A., Lopes, R.J., Pereira, M.E., Duarte, A.C., Furness, R.W., 2007. The influence of dietary specialization and trophic status on mercury levels in two

- species using common coastal wetlands, *Himantopus* and *Sterna albifrons*. *Ardeola* 54, 275–288.
- Thorp, J.L., Van Der Merwe, N.J., 1987. Carbon isotope analysis of fossil bone apatite. *S. Afr. J. Sci.* 83, 712–715.
- Tuross, N., 2002. Alterations in fossil collagen. *Archaeometry* 44, 427–434. <https://doi.org/10.1111/1475-4754.00075>
- Unno, W., 1956. Line Formation of a Normal Zeeman Triplet. *Publ. Astron. Soc. Japan* 8, 108–125.
- Van den Bosch, J. C., 1957. "The Zeeman effect." *Spektroskopie II/Spectroscopy II*. Springer, Berlin, Heidelberg, 296-332.
- Van der Merwe N.J., Medina E. 1989. Photosynthesis and <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C ratios in Amazonian rain forests. *Geochim Cosmochim Acta*. 53: 1091–1094
- Zazzo, A., Lécuyer, C., Mariotti, A., 2004. Experimentally-controlled carbon and oxygen isotope exchange between bioapatites and water under inorganic and microbially-mediated conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta*. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(03\)00278-3](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(03)00278-3)
- Yoder, C., 2010. Diet in medieval Denmark: A regional and temporal comparison. *J. Archaeol. Sci.* 37, 2224–2236. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2010.03.020>
- Wang, Y., Cerling, T.E., 1994. A model of fossil tooth and bone diagenesis: implications for paleodiet reconstruction from stable isotopes. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 107, 281–289. [https://doi.org/10.1016/0031-0182\(94\)90100-7](https://doi.org/10.1016/0031-0182(94)90100-7)
- Welz, B., 1999. Atomic absorption spectrometry - pregnant again after 45 years. *Spectrochim. acta, Part B At. Spectrosc.* 54, 2081–2094. doi:10.1016/S0584-8547(99)00154-8
- White W.M., 2005. Stable Isotopes Geochemistry. In: *Geochemistry* 9:358-414.
- White, W.M., 2013. *Geochemistry, Lithos*. <https://doi.org/10.1016/j.lithos.2009.07.004>
- WHO, 2003. Health Aspects of Air Pollution with Particulate Matter, Ozone and Nitrogen Dioxide. Rep. a WHO Work. Gr. Bonn, Ger. 13–15 January 2003 98. <https://doi.org/10.2105/AJPH.48.7.913>

## CAPÍTULO 3

### **Mercury concentrations in terrestrial fossil vertebrates from the Bauru Group (Upper Cretaceous), Brazil and implications for vertebrate paleontology**

Artigo publicado no Journal of South American Earth Sciences

<https://doi.org/10.1016/j.jsames.2018.06.006>

Felipe Mendes S. Cardia<sup>a</sup>, Rodrigo Miloni Santucci<sup>b</sup>, José Vicente Elias Bernardi<sup>b</sup>,  
Marco Brandalise de Andrade<sup>c</sup>, Carlos Eduardo Maia de Oliveira<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Química, Campus Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

<sup>b</sup>Faculdade UnB Planaltina, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

<sup>c</sup>Escola de Ciências, PUCRS – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

<sup>d</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, Campus Votuporanga, SP, Brasil.

## ABSTRACT

In this study we determined total mercury concentrations (THg) in a set of fossils from the Upper Cretaceous Bauru Group, Brazil, and investigated how the incorporation of this element occurs in fossil organisms and in their paleoenvironment. The analyzed fossil specimens were collected from two different locations (Jales and Fernandópolis) of the Adamantina Formation and correspond to samples of teeth, bones, osteoderms, and crocodylomorph eggs (probably laid by Baurusuchidae), and their associated sediments. The samples were submitted to Zeeman atomic absorption spectrometry, showing concentrations ranging from approximately 5 ng.g<sup>-1</sup> to 77 ng.g<sup>-1</sup> in biomineral matrix. The results show mild fluctuations of Hg concentration in the different types of fossils analyzed, with teeth and bones retrieving more Hg than osteoderms, thus being the most suitable for this type of analysis. Adult specimens of Baurusuchidae showed 30% more Hg than juvenile ones in their biomineralized tissues, which points to a continuous process of Hg accumulation throughout the individual's life history. As for the determination of Hg in sedimentary rocks, which has been previously claimed to be an indication of the relationship between volcanic activities and some mass mortality events (MMEs), the analysis of Hg in fossils can furnish additional information for future studies regarding the relationship between disturbances in the Hg cycle triggered by volcanic emissions and MMEs. Additionally, the results also suggest that the concentration of Hg in fossil vertebrates can be used as a tool for discussions about ontogenetic stages and, in some very particular cases, identification of female individuals.

**Key-words:** Hg cycle; Cretaceous; Baurusuchidae; mass mortality events; Bauru Group

### 3.1. INTRODUCTION

Recent studies have reported the presence of mercury (Hg) in sedimentary rocks as evidence of mass mortality events (MMEs) in different geological periods (e.g. Sial et al., 2013; Font et al., 2016; Ernst and Youbi, 2017; Gong et al., 2017; Jones et al., 2017; Percival et al., 2017). Mercury is a globally distributed toxic metal that exists as metallic ( $\text{Hg}^0$ ), inorganic ( $\text{Hg}^{2+}$ ), and organic (e.g. MeHg) forms (Fitzgerald et al., 1998; Morel et al., 1998; Liu et al. 2012). Mercury mobility and bioaccumulation are directly related to its chemical speciation, which occurs in cyclic processes of oxidation and reduction in the environment (Fitzgerald et al., 1998).

The elemental mercury ( $\text{Hg}^0$ ), produced by geological processes, is primarily volatilized to the atmosphere by geological activities (e.g. volcanism), and secondarily by volatilization from water bodies and from soil (Morel et al., 1998; Selin, 2009), corresponding to approximately 95% of the total mercury available in the atmosphere (Morel et al., 1998), which can be oxidized into  $\text{Hg}^{2+}$ , an inorganic species that is precipitated and deposited in terrestrial and aquatic systems (Amyot et al., 1997; Fitzgerald et al., 1998; Morel et al., 1998; Selin, 2009). In aquatic systems and sediments (and soil), part of  $\text{Hg}^{2+}$  can be methylated by sulfate-reducing microorganisms in the form of bioavailable methylmercury (MeHg) (Compeau and Bartha, 1985; Ullrich et al., 2001), an organic compound that can be bioaccumulated in organisms (WHO, 1992; Clarkson, 1997; Morel et al., 1998; Watras et al., 1998).

Recently, Percival et al. (2017) suggested a close association between the end-Triassic (~201.5 Ma) mass extinction event and the presence of elevated Hg concentrations in sediments related to large-scale volcanic activities that took place at that time. They examined the concentration of Hg and total organic carbon (TOC) in end-Triassic sediments of six geographically distinct records of basaltic units of the Central Atlantic Magmatic Province (CAMP). The results suggest that Hg peaks in end-Triassic sedimentary rocks are associated with the volatilization of  $\text{Hg}^0$  released by a great volcanic episode, which led to the global environmental disturbance during a long-time interval, with harmful effects on the biota and its recovery capacity (Percival et al., 2017).



Although other studies have also suggested the relationship between the increase of Hg concentration in sediments and mass extinctions events (e.g. Sial, et al, 2013; Font et al., 2016; Thibodeau et al., 2016; Gong et al., 2017; Grasby et al., 2017), none, as far as we know, have yet performed measurements of Hg in fossils vertebrates, which could provide additional and more effective evidence of the influence of Hg in past terrestrial ecosystems.

Previous studies reported the presence of Hg in mineralized tissues (hydroxyapatite/calcite/aragonite) in archaeological/fossil remains. Outridge et al. (2002), for example, compared THg concentrations in modern and preindustrial teeth of belugas from Canada. Although in this study the THg may include both the hydroxyapatite and the collagen, they found that the Hg concentrations increased at least four times in modern teeth. Xu et al. (2011) also noted an increase in THg concentrations in a 700-year record of avian eggshells from China. Rasmussen et al. (2013) analyzed the THg in medieval skeletons, using bone tissues and surrounding sediments, to investigate the cause of death of those individuals and concluded that the Hg, besides accumulating in the organism, has the capacity to remain stored for a long time in bones and other biomineralized materials. Murray et al. (2015) studied the variations in Holocene THg concentration in fish bone from Alaska and suggested that the increase in THg concentrations was the result of coastal flooding that could have led to increased methylation of Hg in the studied area. Meyer et al. (2017) reported the presence of THg anomalies in shell of marine mollusks and suggested they could be related to the volcanic activities that formed the Deccan Traps.

In this work, we analyze the presence of Hg in Upper Cretaceous crocodylomorphs from Brazil and the natural uptake of mercury in these organisms as sourced from their paleoenvironment. The fossils used in this study include bone, tooth, osteoderm, and eggshells of various Baurusuchidae specimens, a relatively common crocodylomorph found in Bauru Group deposits.

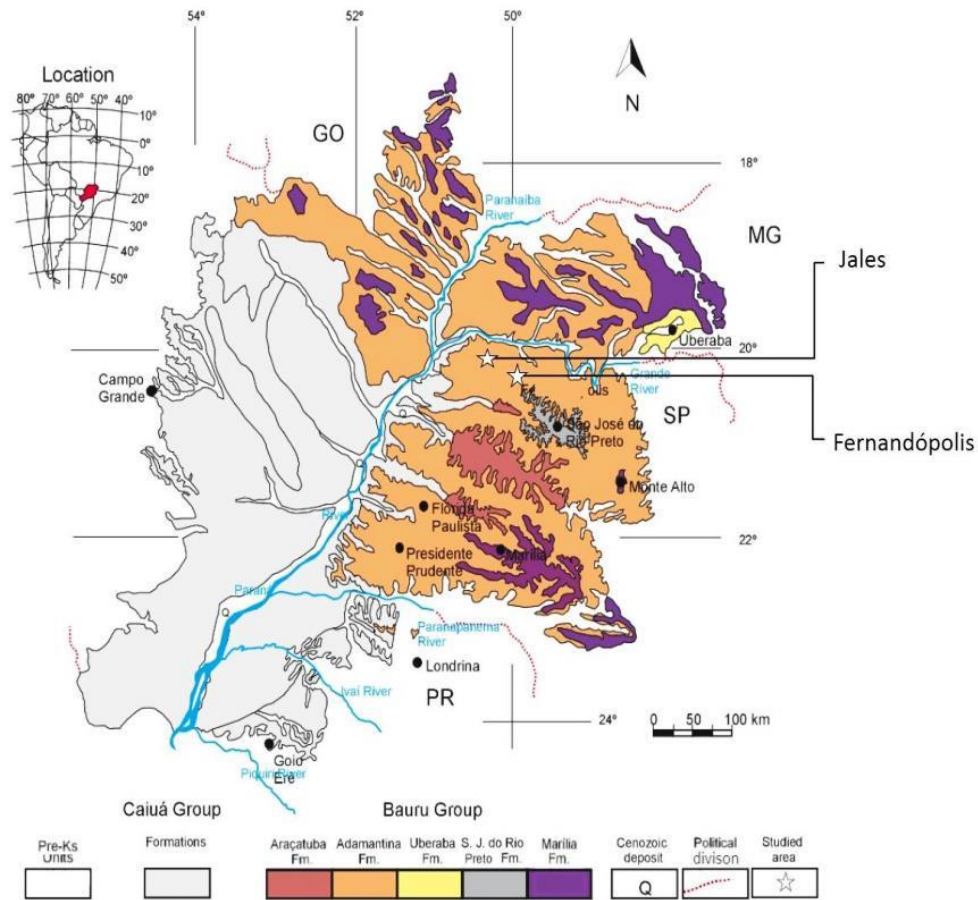
Although not conclusive, the realization that fossil vertebrate materials (e. g. tooth, bones, and eggshells) may contain Hg that has been incorporated by the organism from the environment during its life furnishes an additional information on the study of mass mortality events caused by volcanic activities. In this case, a connection among coeval large igneous provinces, sedimentary deposits, and associated fossils can be made by the identification of synchronic positive Hg anomalies in them. Moreover, the presence of Hg in fossil vertebrates could provide additional support for studies

regarding ontogenetic development and, in some specific cases (e. g. egg-laying vertebrates with osteoderms, such as crocodylomorphs) the identification of female individuals.

## **3.2.MATERIAL AND METHODS**

### **3.2.1. Geological setting**

The samples were collected from rocks of the Adamantina Formation (Bauru Group), Upper Cretaceous, in the cities of Fernandópolis and Jales, São Paulo State, Brazil (Fig. 3.1). The Bauru Group corresponds to a continental depositional system formed by the accumulation of a ~300 m thick sedimentary sequence that overlies a large basaltic province (Serra Geral Formation) in the center of the South American Plate, which mainly developed during the Upper Cretaceous (e.g., Fulfaro and Perinotto, 1996; Fernandes and Coimbra, 2000; Dias-Brito et al., 2001; Paula & Silva et al., 2003). The deposition took place under semi-arid to arid conditions, where aeolian (Goio Erê/Rio Paraná formations), lacustrine (Araçatuba Formation), fluvial (Adamantina/Uberaba formations), and alluvial (Marília Formation) depositional systems developed (Fernandes and Coimbra, 2000) during the Upper Cretaceous (e.g. Dias-Brito et al., 2001; Santucci and Bertini, 2001).



**Figura 3.1** - Geological map of the Bauru Group showing the location of the sampling sites (Jales and Fernandópolis). Compiled from Fernandes and Coimbra (1996) and Fernandes (2004).

### 3.2.2. Sampling Procedure and Preparation

The materials analyzed in this research were collected from Adamantina Formation deposits (São Paulo State), corresponding to juvenile and adult Baurusuchidae (Crocodylomorpha) specimens and their host matrix. They were chosen because this group of crocodylomorphs seems to be little affected by diagenetic processes, which can be confirmed by the following: 1-the host sandstone is not, or is slightly cemented by CaCO<sub>3</sub>; 2-when viewed in thin section the bones are not affected by the growth of CaCO<sub>3</sub>; 3-the microscopic structure of the bone hydroxyapatite is well preserved, showing the typical pattern of hydroxyapatite fibers, like the woven and lamellar tissue, and the lines of arrested growth are clearly visible; 4-the eggshells present the original calcite configuration, consisting in the presence of shell basic units, formed by calcite fibers which grow radially from the basal plate groups, showing the typical pattern of undulating extinction when analyzed under polarized light; 5-the eggshells present the original pore openings. For further information on the preservation

of the eggshells, SEM, thin section images see Oliveira et al. (2011). These features indicate that these samples are not affected (or were little affected) by recrystallization during diagenesis. Additionally, Baurusuchidae fossils are abundant in these areas and their bones are fairly available for destructive studies. Finally, the Adamantina Formation deposits show, in some instances, pebbles of basaltic rocks from the Serra Geral Formation (Batezelli, 2010). Although this volcanic event is not coeval with the fossil remains found in Adamantina Formation, this indicates that the Bauru Group sedimentary deposits may be naturally enriched by Hg produced by the weathering of the basaltic rocks of the Serra Geral Formation.

Two basalt samples were also collected to verify the natural presence of Hg in associated volcanic rocks. The basalt samples represent two different moments of this event. The sample A was collected in Santa Rita do Passa Quatro (São Paulo State), near the contact with the underlying unit (Botucatu Formation), representing early lava flows. The sample B was collected at Uberaba Municipality (Minas Gerais State), from a layer overlaid by the greenish sandstones of the Uberaba Formation, and represent the last basaltic events preserved in this region. An  $Ar^{40}$ - $Ar^{39}$  geochronologic study established that most of the Serra Geral basaltic rocks formed during the interval of 137-127 Ma (Turner et al., 1994).

All the skeletal elements are well preserved morphologically and relatively complete, which facilitates the taxonomic identification. Regarding the eggshells (*Bauruoolithus fragilis*), to date, only adult Baurusuchidae remains have been found in close association with them in Jales locality (i. e. in some instances less than two meters apart). However, in Fernandópolis, the eggshell findings are rarer and juvenile and adult Baurusuchidae are present together with Sphagesauridae occurrences, which consists in another group of notosuchians. Because of that, there is no absolute certainty about the egg-laying taxon identity, since no direct evidence between Baurusuchidae and the eggshells has been found so far (Oliveira et al., 2011).

The sampling procedure consisted of selecting well-preserved Baurusuchidae material with no signs of fracturing, which diminishes the weathering effects (or chemical alteration) in the samples made by the interstitial water and, therefore, decreases the risk of post-burial alteration. The sandstone matrix was removed and submitted to THg analysis as well. Additionally, the Hg values in mineralized fossil tissues can be biased during diagenesis in a different way when compared to each other. García-Alix et al. (2013) reported the occurrence of an uncommon diagenetic process

which is responsible for the cinnabar (HgS) contamination in late Miocene mammal remains from Spain. The authors analyzed small reddish mammal bones and teeth and found that the cinnabar is not evenly distributed in those samples, being bone fragments at least two times more enriched in HgS than the dentine, and the tooth enamel almost completely devoid of cinnabar. This can be explained by differences in the organic matter originally present in the hydroxyapatite, which produces empty spaces that are more suitable for mineral crystallization after its decomposition (García-Alix et al., 2013). The authors also suggested that cinnabar mineralized the mammal fossil remains under reducing environmental conditions with high sulphide contents, which could favor the cinnabar formation. This does not seem to be the case for the Adamantina Formation fossils studied here, because they are white in color (i. e. they seem not to be affected by the crystallization of cinnabar which is essentially red in color) and were found in reddish sandstones, which suggests that the conditions at the time of deposition were oxidative rather than reductive. Additionally, García-Alix et al. (2013) did not furnish any information on the Hg concentration of the rock matrix, so that it is not possible to draw any conclusion regarding the differences (if any) among the THg concentration of the sedimentary rock and the mammal bones found in those deposits. For further information regarding the presence of diagenetic cinnabar in the samples see the “Discussion” section.

After the matrix removal, the teeth were treated with nitric acid (10%) for 10 seconds, followed by at least three separate rinses in 18.2 MΩ deionized water for 24 hours. Given that the hydroxyapatite of bone/osteoderms has a more open lattice structure than teeth, these materials are typically more porous and sensitive to treatment with nitric acid. Therefore, these samples were only rinsed in 18.2 MΩ deionized water for 24 hours. All samples were air dried at room temperature for 24 hours and ground to a very fine homogeneous powder by a glass plate crushing system. The use of glass plates avoided the contact of the samples with any substances other than SiO<sub>2</sub>, which has a high melting point and is not affected by subsequent pyrolysis steps during spectrophotometric analysis. The samples of biomineralized fossil tissues and their host sediments were analyzed in triplicate aliquots of 200 mg each via Zeeman atomic absorption spectrometry (Lumex RA-915+ Analyzer with the PYRO915 Attachment), described below.

### 3.2.3. Analytical Procedures and Instrumentation for THg Analysis

The total Hg concentration measurements were performed at the Laboratory of Analytical and Environmental Chemistry of the University of Brasília, Brazil, using a Lumeman® Portable Luminescence Zeeman Analyzer RA 915+ (Lumex). The principle of operation of the equipment is based on the Zeeman effect and involves the splitting of the mercury resonance line ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) from a source of UV radiation (a mercury lamp) into three components ( $\pi$ ,  $\sigma^-$ ,  $\sigma^+$ ) in the presence of a permanent magnetic field (Ohio/Lumex, 2012; Panichev and Panicheva, 2015). A photodetector records the  $\sigma$  components, in which one component passes through an analytical cell prior to the photodetector and the other does not, therefore, in the absence of Hg vapor the intensity of both  $\sigma$  components are equal (Ohio/Lumex, 2012; Panichev and Panicheva, 2015). However, if Hg vapor is present in the cell, they produce a proportional difference in the intensity values that scales with the concentration of Hg vapor (Ohio/Lumex, 2012; Panichev and Panicheva, 2015). The Hg vapor is introduced into the analytical cell following pyrolysis of sample matrix at  $800^\circ\text{C}$  (Ohio/Lumex, 2012; Panichev and Panicheva, 2015). The Hg concentration in the fossil is determined from a calibration curve of the absolute amount of Hg ( $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ) relative to the integrated analytical signal (Ohio/Lumex, 2012; Panichev and Panicheva, 2015).

The samples were weighed into triplicate aliquots of approximately 200 mg each and were pyrolyzed at temperatures between  $750\text{--}800^\circ\text{C}$  for 50 seconds.

Since there is no standard reference material for THg analysis in fossil bone (fossilized hydroxyapatite matrix), we used the SRM 1400 (bone ash) reference material of the National Institute of Standards and Technology, USA (NIST), to create a previous analytical curve for Hg concentration. This standard reference material best represents the molecular structure found in fossil teeth, bones, and osteoderms, which are composed almost entirely of hydroxyapatite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ; Hillson, 1996; Mays, 1998). SRM 1400 is calcined at high temperature and, therefore, does not have any Hg in its composition.

The use of the Zeeman Analyzer RA 915+ and the analytical procedures were established under the following conditions: 60 minutes of preheating time; pyrolysis temperature of  $800^\circ\text{C}$  (module 1); analysis time of 60 seconds; and aliquot volume of  $200\mu\text{L}$  for construction of the calibration curve. The analytical curve was constructed in

order to correlate the absorbance signal with known concentrations of Hg (working concentrations range from 2 to 150 ng.g<sup>-1</sup> of Hg) by diluting a standard mercury solution of 1000µg/ml.

The method was tested for the validation parameters such as: detection and quantification limits, range, recovery, calibration curve, linearity, and precision (WHO, 1992; Eurachem Working Group, 1998; ISO/IEC, 1999; US-FDA, 2000). The quality of the measurements performed by the Lumex 915+ was assessed by the recovery tests on the spiked SRM 1400 reference material. The material used for spiking the SRM 1400 was the Hg standard 1000µg/ml manufactured by the Aldrich Chemical Company Inc. The recovery factor (accuracy) of the concentrations used for spiking (concentrations of 10, 30, and 60 ng.g<sup>-1</sup>) was 106.86% and the standard deviation of the triplicate was 4.20, which means that associated errors are not statistically significant and that the results are reliable without any interfering components in the measured signal of the analyte (see Supplementary Information).

Considering the studies of Vessman et al. (2001) and Guilhen et al. (2010), it can be considered that the selectivity of the method was tested, and that the matrix has no significant effect on the accuracy of the method in the concentration range set in this study. The analytical curve was constructed to correlate the absorbance signal with the known concentration of Hg (working solutions varying from 2 ng.g<sup>-1</sup> to 150 ng.g<sup>-1</sup>) by diluting a standard Hg solution of 1000µg/ml. The linearity was calculated for seven concentrations (2, 5, 10, 20, 50, 100, and 150 ng.g<sup>-1</sup>) in the working range between 2 ng.g<sup>-1</sup> and 150 ng.g<sup>-1</sup> and the best correlation coefficient obtained was 0.999. The calculated detection limit is 1.49 ng.g<sup>-1</sup>.

Finally, one tooth sample (JA01-t) and one bone sample (JA01-b) were submitted to sulfur isotope analysis by using a Neptune MC-ICP-MS (Laser Ablation-Multi Collector-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer), coupled with a NewWave UP213 Nd:YAG as ablation source, at the Geochronology Laboratory of the Institute of Geosciences, University of Brasilia. This analysis intended to determine the isotopic fraction of sulfur, since it can be used as a sign for the biogenic origin (Thode, 1991) for this element considering that sulfur can bond with Hg to form cinnabar. These same samples were analyzed in a Renishaw inVia micro-Raman spectrometer at the Brazilian Synchrotron Light Laboratory (LNLS) to detect the possible presence of cinnabar (HgS), which is the main and most stable mercury mineral.

### 3.3.RESULTS

The results show higher values for THg concentration in biomineralized tissues in comparison to their surrounding sediments (Table 3.1), with a range of values from approximately 5.0 to 77.0 (ng g<sup>-1</sup>) for the fossil samples and a range of 2.6–3.4 (ng g<sup>-1</sup>) for the surrounding sediment/host rock (sandstones). The standard deviation, considering the triplicates analyzed is not higher than 0.7 ng g<sup>-1</sup>, except for the eggshell and basalt samples, where it can reach up 5.9 ng g<sup>-1</sup>. The analysis was not conducted in triplicate for one eggshell sample (FE03-e) due to the extremely thin shell (approximately 0.1 mm), which also precluded a proper removal of the sandy matrix without breakage. Thus, only 200 mg was analyzed for this sample.

**Table 3.1** - Hg concentration values (ng.g<sup>-1</sup>) for different samples from the Upper Cretaceous Bauru Group, Adamantina Formation (osteoderms, teeth, bones, eggshells, and associated sandstones) and the Lower Cretaceous Serra Geral Formation (basaltic rock). The average THg concentration values and the standard deviation regard the considered triplicate analysis for each sample. \* eggs assigned to Baurusuchidae (see Material and Methods for further information). § sample not analyzed in triplicate due to the extremely thin eggshell so that only a small amount of CaCO<sub>3</sub> could be recovered.

Sample	Locality	Number	Type	Average THg concentration (ng g <sup>-1</sup> )	Standard deviation
Baurusuchidae* adult	Jales	JA04-e	Eggshell	11.3763	±1.32
Baurusuchidae* adult	Jales	JA03-e	Eggshell	14.0936	±4.66
Baurusuchidae adult	Jales	JA01-o	Osteoderm	07.0435	±0.08
Baurusuchidae adult	Jales	JA01-t	Tooth	13.2142	±0.38
Baurusuchidae adult	Jales	JA01-b	Bone	12.7894	±0.28
Rock matrix	Jales	JA-01-sd	Sandstone	03.4261	±0.10
Baurusuchidae adult	Fernandópolis	FE01-b	Bone	12.8653	±0.16
Baurusuchidae adult	Fernandópolis	FE01-t	Tooth	12.7105	±0.15
Baurusuchidae juvenile	Fernandópolis	FE02-b	Bone	09.1530	±0.12
Baurusuchidae juvenile	Fernandópolis	FE02-o	Osteoderm	04.6640	±0.75
Baurusuchidae*§ adult	Fernandópolis	FE03-e	Eggshell	77.5337	-
Rock matrix	Fernandópolis	FE03-sd	Sandstone	02.6332	±0.23
Basalt (top portion)	Uberaba	Sample B	Basalt	09.7425	±5.93
Basalt (bottom portion)	Sta. Rita Passa Quatro	Sample A	Basalt	08.6537	±3.56

Overall, the different biomineralized matrices sampled for adult Baurusuchidae have similar Hg concentration values, ranging around 12 to 13 ng.g<sup>-1</sup> in teeth and



bones. However, the Hg average values of osteoderms in juvenile ( $4.6 \text{ ng.g}^{-1}$ ) and adult ( $7.0 \text{ ng.g}^{-1}$ ) Baurusuchidae show lower values than other biomineralized materials (teeth, bones, and eggshells). Baurusuchidae-related eggshell show the highest values (e.g.  $77.5 \text{ ng.g}^{-1}$ ) when compared to the other biomineralized tissue analyzed. Additionally, they also vary greatly, presenting lower THg values than that seem in teeth and bones (e. g.  $11.3 \text{ ng.g}^{-1}$ ), for example.

The sample group from Fernandópolis has the advantage to include both juvenile and adult specimens, which may suggest differences of THg concentration through ontogenetic stages. The THg concentration values of juvenile and adult baurusuchids from Fernandópolis are different, being the values found in the osteoderms and bones, respectively, ~33% and ~30% lower in the juvenile specimen.

The THg concentration are similar for the Early Cretaceous basaltic rocks from the Serra Geral Formation, ranging from  $8.6 \text{ ng.g}^{-1}$  to  $9.7 \text{ ng.g}^{-1}$ , which is less than the values found in adult Baurusuchidae teeth and bones.

The RAMAN spectroscopy and the sulfur stable isotope analysis of the tooth (JA01-t) and bone (JA01-b) samples did not recover any sign of cinnabar and sulfur, respectively.

### **3.4. DISCUSSION**

Recent studies have related volcanism to mass extinctions events by determining the THg in sedimentary rocks associated with large igneous provinces (LIPs; Thibodeau et al., 2016; Ernst and Youbi, 2017; Jones et al., 2017; Percival et al., 2017). One of the reasons for this type of analysis not being carried out in fossils so far is concerned to the absence of fossil remains in large igneous provinces (Bergquist, 2017). To date, only Meyer et al. (2017) evaluated the concentration of THg in fossil remains, where they found Hg anomalies in end-Cretaceous marine shells that could be related to the Deccan Traps activity. In addition to its direct association with large volcanic events, where the gaseous  $\text{Hg}^0$  can be readily made bioavailable in the atmosphere by volcanism, the global mobility of Hg, such as its availability in aquatic systems and sediments as the methylated Hg (Compeau and Bartha, 1985; Ullrich et al., 2001; Lamborg et al., 2002;

Selin, 2009) must be considered, since it can be naturally present in depositional systems as a result of weathering of nearby volcanic provinces.

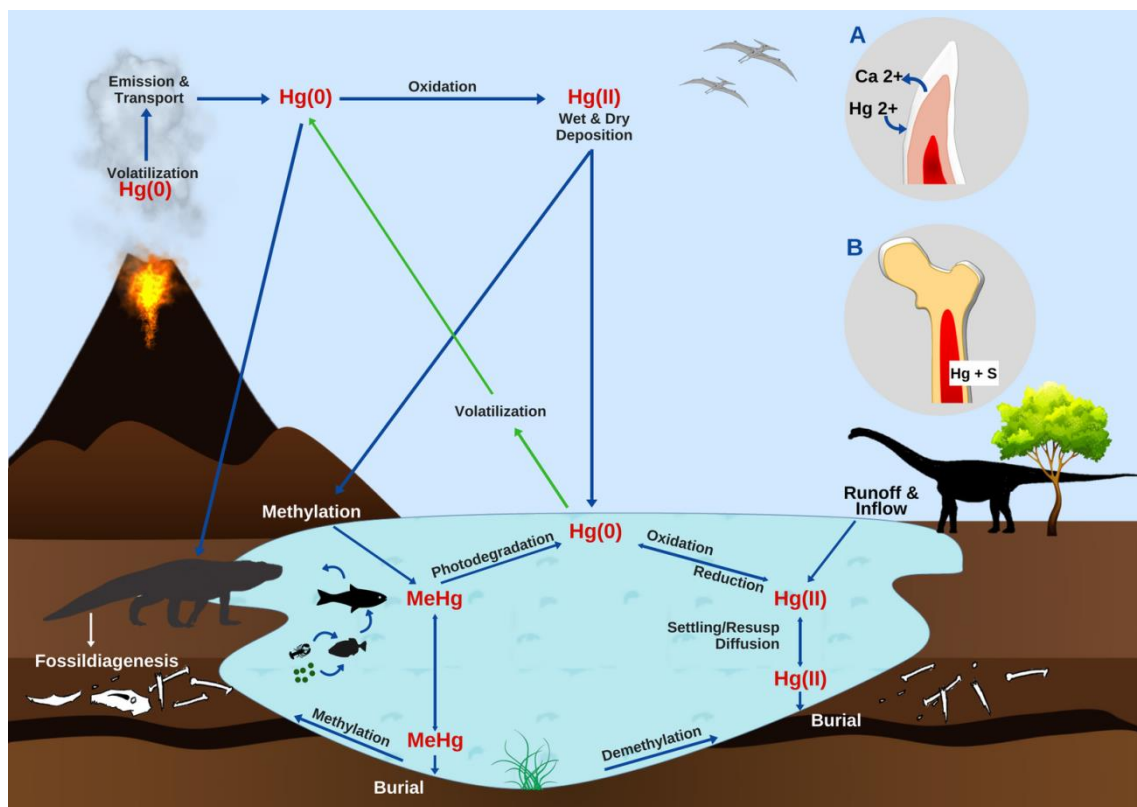
In aquatic sediments, microorganisms such as sulfate-reducing bacteria and fungi facilitate the bounding between the ion  $\text{Hg}^{2+}$  and sulfhydryl group of amino acids, such as cysteine (Mason et al. 1995; Schaefer et al., 2011), to form organic mercury compounds with high potential for bioconcentration in organisms caused by air and food intake (Compeau and Bartha, 1985; WHO, 1992; Chen and Wilson, 1997; Fleming et al. 2006).

The presence of Hg in biomineralized fossil tissues can be explained by the existence of different mechanisms of absorption and excretion of this element (Clarkson, 1997). In animals exposed to natural contamination by methylmercury ( $\text{CH}^3\text{Hg}^+$ ), for example, the degradation of organic compounds into inorganic ( $\text{Hg}^{2+}$ ) is promoted by the action of phagocytic cells of various tissues and intestinal microflora (Suda and Takahashi, 1990; Clarkson, 1997), which act by breaking carbon bonds and making the  $\text{Hg}^{2+}$  ion available. In general, some organisms use MeHg energy during oxidative demethylation (Skylberg, 2010) and release these ions which can be incorporated by animals. Both methylation and demethylation of Hg are products of reactions furnished by microorganisms (Benoit et al., 1999), with demethylation being a process that occurs in biotic and abiotic environments (Skylberg, 2010).

The diagenetic contamination of hydroxyapatite is a disputed subject and previous works dedicated to the understanding the chemical composition of fossils (e.g., Price et al., 1992; Chillón et al., 1994; Kolodny et al., 1996; Trueman and Tuross, 2002; Hoppe et al., 2003). For instance, only tooth enamel is generally considered for C and O isotopic analysis in fossils, since the original ratio of these elements in bone remains can be altered during diagenesis and by microorganisms (e. g. Kolodny et al. 1996; Lécuyer et al., 2003; Zazzo et al., 2004). As stated before, García-Alix et al. (2013) reported the presence of Hg in mammal fossil bones and teeth and found that bones are more enriched in Hg than the dentine due to the presence of more pore space in bones, and that tooth enamel practically does not present Hg. Our results show, however, that teeth and bone have very similar Hg values, except by osteoderms, which are less enriched in this element (Table 1). This is exactly the opposite of one would expect if the fossils analyzed here were enriched by Hg during the diagenesis as reported by García-Alix et al. (2013), being that the osteoderms should present the highest THg values given they

have much more pore space than the long bones. This strongly supports that the presence of Hg in the fossil samples studied here are the result of the Hg incorporation throughout their lives.

One of the explanations for the presence of Hg in Baurusuchidae samples, therefore, can be related to the chemical speciation of this element during the decaying of the organic matter in pre-burial/burial stage, as already suggested by Rasmussen et al. (2013). In this way, the microorganisms that break carbon bonds of amino acids in search for energy (Clarkson, 1997; Ullrich et al., 2001; Fleming et al., 2006) will release  $\text{Hg}^{2+}$  ions present in organic matter that could form covalent bonds with sulfur (S), producing mercury sulfide ( $\text{HgS}$ ) (Fig. 3.2).



**Fig. 3.2** - Proposed mercury cycle and its trapping in biomineralized tissues under the form of  $\text{Hg}^{2+}$  within hydroxyapatite (teeth and bones) and  $\text{HgS}$  (cinnabar) as a result of the calcium substitution for mercury in hydroxyapatite lattice (A) or the organic decaying within tooth dentine and medullary bone (B). Based on Nriagu (2003), Engstrom (2007), and Selin (2009). The  $\text{Hg}_0$  produced by volcanic activities undergo oxidation and reach the water bodies and sediments where it can be methylated by microorganisms.

According to Schuster (1991), the affinity between Hg and S explains the strong relationship of Hg with organic matter and the stability of  $\text{HgS}$ .  $\text{HgS}$  is an important component of the Hg cycle, with cinnabar ( $\alpha\text{-HgS}$ ) being the main mercury mineral

(Rytuba, 2003; Holley et al., 2007). However, the attempts to determine the presence of cinnabar (HgS) and the isotopic ratio of sulfur in the tooth (JA01-t) and bone (JA01-b) by using the RAMAN spectroscopy and the mass spectrometer, respectively, were inconclusive because it may either point to an absence of S in the samples or could indicate that the S concentration (and therefore the HgS concentration) is under the detection limit of these equipment.

Alternatively, as the bone, dentin, and enamel are composed entirely by a mineralized structure, the hydroxyapatite ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), and an organic matrix, the collagen (Lee-Thorp et al., 1989; Ambrose and Norr, 1993; Mays, 1998; Koch, et al., 2007), during this mineralized tissue formation, it can be considered that due to its electric charge and similar ionic radius, 0.110 for  $\text{Hg}^{2+}$  and 0.114 for  $\text{Ca}^{2+}$  (Ávila et al., 2014),  $\text{Hg}^{2+}$  can occupy the calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) position in the hydroxyapatite lattice (Keça et al., 2012; Ávila et al., 2014), which also could culminate in its entrapment in the fossil mineralized tissues. For instance, this process can be produced in laboratory by mercury sorption (Souza, 2015), where  $\text{Hg}^{2+}$  cations replace calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) in the hydroxyapatite.

In a similar way to what happens to  $\text{Ca}^{2+}$  in hydroxyapatite, Brown et al. (2005) reported the presence of Hg in mollusk shells as a result of contamination in the North Folk Holston River and they found that the THg concentration increases in shells collected near the contamination source. In mollusks the shell-forming elements (e. g.  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ) are incorporated by the organism from water or ingested as food (Klein et al., 1996). However, the composition of the extrapallial fluid (where the calcification occurs) can be influenced by the incorporation of metals, from metabolic activities, and seawater salinity, for instance (Klein et al., 1996). Because of this, other bivalent cations such as Ba, Cd, Mn, and Zn can occupy the  $\text{Ca}^{2+}$  ion site in the carbonate lattice as specifically shown by Soldati et al. (2016) for the  $\text{Mn}^{2+}$  in mollusk shell aragonite. The same holds true for  $\text{Hg}^{2+}$ , which was described by Kurunczi et al. (2001) as a substitute of  $\text{Ca}^{2+}$  ions in mussel shell carbonate.

Similarly, the presence of Hg in bone matrix and eggshells of extant crocodylomorphs were reported by several previous studies (e. g. Rainwater et al., 2002; Xu et al. 2006; Trillanes et al. 2014; Preez et al., 2018). For example, Xu et al. (2006) found values varying from 43 to 83  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  in *Alligator sinensis* eggshell, whereas Rainwater et al. (2002) found concentrations varying from 20 to 230  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  in wild

*Crocodylus moreletii* eggshells. They also found that the Hg concentrations varies according to the egg site but are constant in eggs from the same nest and among nests from the same site, suggesting that the Hg variation found in different nest sites are due to varying environmental mercury bioavailability and bioaccumulation. The THg concentrations found in Baurusuchidae eggshell (11 to 77 ng.g<sup>-1</sup>) roughly fall within the ranges found for extant crocodylomorphs.

Interestingly, Dacke *et al.* (2015) suggested that female crocodiles use the calcium stored in their dermal bones as a source of this element during egg laying. They found that these females show osteoderm resorption during the period the eggs are being formed. This process could explain not only the ability of the mineralized portion of eggshells to keep Hg in their structure, but the higher Hg concentration in the eggshell samples and the lower Hg concentration in some dermal bones analyzed (see Table 1).

Still regarding eggshells, Peterson *et al.* (2017) analyzed the THg concentration in the mineral eggshell matrix of more than 20 bird species and concluded that THg concentrations in bird eggshells decrease with the embryo age. They suggested that the mobilization of calcium by the developing embryo, which occasionally would absorb the same divalent Hg ion from the shell, could produce this pattern. If the same reasoning could be applied for the crocodylomorph eggs/embryos, the differences in THg concentrations observed in Baurusuchidae eggshells (Table 1) could be due to differences in egg/embryo age.

It is important to highlight that a considerable part of the sample material we analyzed consists of teeth, which are considered to be more resistant to syn- and post-depositional contamination due to their closely packed lattice structure (Montgomery *et al.*, 1999; Price *et al.*, 2004). In addition, the Hg concentration values for the teeth collected from the two different localities are similar, which suggests they incorporate similar quantities of Hg from the environment. This compares with similar Hg concentration values between sandstone samples from the two localities, which are the host rock for the fossil specimens (Table 1). Also, teeth show only slightly higher THg values than bony material (Table 1), which indicates that bones can also be considered as good indicators for THg, and that Hg seems to have low mobility regarding both mineralized tissues. For example, the tooth specimen collected in Jales (JA01-t) showed the highest average concentration of Hg (13.2 ng.g<sup>-1</sup>), whereas the values for the bone of the same individual is 12.7 ng.g<sup>-1</sup>. The same holds true for the THg of the adult

Baurusuchidae from Fernandópolis where both tooth and bone have the same value (12.7 ng.g<sup>-1</sup>).

The mercury present in biomineralized tissues of Baurusuchidae and the differences in concentration between young and adult individuals point to the high availability of this element in this Cretaceous paleoecosystem and suggest that the biota bioaccumulated Hg from their environment throughout their ontogenetic development and could indicate a process of bioaccumulation of this element. Munn and Short (1997) and Jezierska and Witeska (2006) reported the continuous accumulation of THg in extant fish where the THg concentrations in muscle strongly correlates with age. However, this trend does not seem to be a general rule, since Kojadinovic et al. (2007) found evidence of Hg bioaccumulation with age in some seabirds from the Western Indian Ocean, but Thompson et al. (1991) did not find any trend in the Hg concentration in an European seabird and suggested that this variation could be related to dietary differences among species. Considering an extant crocodylomorph example, Khan and Tansel (2000) studied the THg concentrations in soft tissues of American alligators from the Florida Everglades and found a strong correlation between THg values and age. Although Hg bioaccumulation seems to correlate with age in extant crocodylomorphs, further studies considering THg concentration only in hydroxyapatite are necessary to confirm if Hg content in fossil vertebrates can be related to ontogenetic development.

The Hg source cannot be linked to any coeval volcanic activities at the time of Adamantina Formation deposition since no evidence of them were found so far. Rather, the natural source of Hg seems to be the related to the weathering of Lower Cretaceous basaltic rocks (Serra Geral Formation), which present about three times more Hg than the Adamantina Formation sandstones and is the underlying geological unit of most of Bauru Group deposits.

### **3.5. CONCLUSIONS**

The presence of Hg in fossil Crocodyliformes (Baurusuchidae) from the Adamantina Formation seems to be linked to a natural presence of this element in their Cretaceous paleoenvironment furnished by the weathering of the underlying basaltic rocks of the Serra Geral Formation. This is the first and earliest record of natural Hg

contamination in vertebrate fossils, where the presence of Hg in different biomineralized tissues (teeth, bones, dermal scutes, and eggs) is interpreted as a record of the exposure of these animals to this element throughout their ontogenetic development. However, it is not clear if the source of the Hg is the organic matrix (which formed cinnabar) present in the hydroxyapatite or the mineralized matrix itself, where the mercury could replace the calcium in their structure. So far, evidences favor the substitution of  $\text{Ca}^{2+}$  for  $\text{Hg}^{2+}$  cations in the hydroxyapatite lattice.

Both teeth and bones can be used as a proxy for the analysis of Hg present in terrestrial vertebrate fossils, allowing this type of analysis to be applied to a wider array of fossil material, differing from the case of stable isotopes of C and O, which are better performed in tooth enamel.

The difference between the THg concentration in teeth of adult specimens of Baurusuchidae collected in the cities of Jales and Fernandópolis varies little (~13.2 and ~12.7, respectively, Table 1), indicating that Hg was similarly preserved in these specimens from different localities.

The adult Baurusuchidae concentration of THg is roughly ~30% higher than that of juvenile individuals, suggesting that there is a continuous process of accumulation of Hg throughout the life of the animal. Alternatively, this can also indicate that they have fed on different items during their development.

The results presented here provide information to understand phenomena that occurred in past environments and generally are not well known due the lack of direct fossil evidence, such as the suggested correlation between Hg concentration in rocks and volcanic Hg emissions and mass extinction events (e.g. Font et al., 2016; Thibodeau et al., 2016; Percival et al., 2017). The connection among coeval large igneous provinces, sedimentary deposits, and associated fossils can be made by the identification of synchronic positive Hg anomalies in them.

Future research on a larger set of both fossil and extant vertebrates will be able to improve and develop the potential use of THg concentrations in determination of female individuals of osteoderm-bearing taxa such as other crocodylomorpha and certain dinosaur clades. Likewise, as most of the literature on bioaccumulation regards on soft tissues, studies on the THg accumulation in hydroxyapatite of extant vertebrates would improve the use of THg concentrations in fossil vertebrates as a tool for the identification of ontogenetic stages of incomplete fossil material.

### **3.6.ACKNOWLEDGEMENTS**

We are in debt to Lourdes Morais (IBRAM), Geraldo Martins (CAESB), João Victor (TQB), and Jurandir Souza (IQ, UnB) for their help during the preparation of the material and analytical procedures. Douglas Galante (LNLS) is thanked for his help during the RAMAN analysis and Luiz Mancini (IG/UnB) is thanked for the S isotopic analysis. RMS also thank the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (National Council for Scientific and Technological Development) for supporting this research (process 311849/2014-8).



### 3.7.REFERENCES

- Ambrose, S.H., Norr, L., 1993. Experimental evidence for the relationship of the carbon isotope ratios of whole diet and dietary protein to those of bone collagen and carbonate, in: *Prehistoric Human Bone: Archaeology at the Molecular Level*. pp. 1–37. doi:10.1007/978-3-662-02894-0\_1
- Amyot, M., Gill, G.A., Morel, F.M.M., 1997. Production and loss of dissolved gaseous mercury in coastal seawater. *Environ. Sci. Technol.* 31, 3606–3611. doi:10.1021/es9703685
- Ávila, A., Mansilla, J., Bosch, P., Pijoan, C., 2014. Cinnabar in Mesoamerica: Poisoning or mortuary ritual? *J. Archaeol. Sci.* 49, 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2014.04.024>
- Batezelli, A., 2010. Arcabouço tectono-estratigráfico e evolução das bacias Caiuá e Bauru no Sudeste brasileiro. *Rev. Bras. Geociências* 40, 265–285.
- Benoit, J.M., Gilmour, C.C., Mason, R.P., Heyes, A., 1999. Sulfide controls on mercury speciation and bioavailability to methylating bacteria in sediment pore waters. *Environ. Sci. Technol.* 33, 951–957. doi:10.1021/es9808200
- Bergquist, B.A., 2017. Mercury, volcanism, and mass extinctions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, 8675–8677.
- Brown, M.E., Kowalewski, M., Neves, R.J., Cherry, D.S., Schreiber, M.E., 2005. Freshwater mussel shells as environmental chronicles: Geochemical and taphonomic signatures of mercury-related extirpations in the North Fork Holston River, Virginia. *Environ. Sci. Technol.* 39, 1455–1462. <https://doi.org/10.1021/es048573p>
- Chen, S., Wilson, D.B., 1997. Genetic engineering of bacteria and their potential for Hg<sup>2+</sup> bioremediation. *Biodegradation* 8, 97–103.

- Chillón, B.S., Alberdi, M.T., Leone, G., Bonadonna, F.P., Stenni, B., Longinelli, A., 1994. Oxygen isotopic composition of fossil equid tooth and bone phosphate: an archive of difficult interpretation. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 107, 317–328. doi:10.1016/0031-0182(94)90103-1
- Clarkson, T.W., 1997. The toxicology of mercury. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 34, 369–403.
- Compeau, G.C., Bartha, R., 1985. Sulfate-reducing bacteria: Principal methylators of mercury in anoxic estuarine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* doi:0099-2240/85/080498-05\$02.00/0
- Dacke, C.G., Elsey, R.M., Trosclair, P.L., Sugiyama, T., Nevarez, J.G., Schweitzer, M.H., 2015. Alligator osteoderms as a source of labile calcium for eggshell formation. *J. Zool.* 297, 255–264. doi:10.1111/jzo.12272
- Dias-Brito, D., Musacchio, E.A., de Castro, J.C., Maranhão, M.S.A.S., Suárez, J.M., Rodrigues, R., 2001. Grupo Bauru: Uma unidade continental do Cretáceo no Brasil - Concepções baseadas em dados micropaleontológicos, isotópicos e estratigráficos. *Rev. Paleobiol.* 20, 245–304.
- Engstrom, D.R., 2007. Fish respond when the mercury rises. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 16394–16395.
- Ernst, R.E., Youbi, N., 2017. How Large Igneous Provinces affect global climate, sometimes cause mass extinctions, and represent natural markers in the geological record. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 478, 30–52. doi:10.1016/j.palaeo.2017.03.014
- Eurachem, 1998. The Fitness for Purpose of Analytical Methods, Eurachem Guide, ISBN: 0-94948926-12-0. doi:978-91-87461-59-0

- Fernandes, L.A., 2004. Mapa litoestratigráfico da parte oriental da Bacia Bauru (PR, SP, MG), escala 1:1.000.000. Bol. Parana. Geosci. 53–66. doi:10.5380/geo.v55i0.4283
- Fernandes, L.A., Coimbra, A.M., 1996. A Bacia Bauru (Cretáceo Superior, Brasil). An. Acad. Bras. Cienc. 68, 194–205.
- Fernandes, L.A., Coimbra, A.M., 2000. Revisão estratigráfica da parte oriental da bacia Bauru (Neocretáceo). Rev. Bras. Geociências 30, 717–728.
- Fitzgerald, W.F., Engstrom, D.R., Mason, R.P., Nater, E.A., 1998. The case for atmospheric mercury contamination in remote areas. Environ. Sci. Technol. 32, 1–7. doi:10.1021/es970284w
- Fleming, E.J., Mack, E.E., Green, P.G., Nelson, D.C., 2006. Mercury methylation from unexpected sources: Molybdate-inhibited freshwater sediments and an iron-reducing bacterium. Appl. Environ. Microbiol. 72, 457–464. doi:10.1128/AEM.72.1.457-464.2006
- Font, E., Adatte, T., Sial, A.N., de Lacerda, L.D., Keller, G., Punekar, J., 2016. Mercury anomaly, deccan volcanism, and the end-cretaceous mass extinction. Geology 44, 171–174. <https://doi.org/10.1130/G37451.1>
- Fulfaro, V.J., Perinotto, J.A.J., 1996. A Bacia Bauru: estado da arte. In: Simpósio Sobre o Cretáceo do Brasil, 4, 1996, Águas de São Pedro. Boletim. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista, pp. 297-303.
- García-Alix, A., Minwer-Barakat, R., Martín Suárez, E., Freudenthal, M., Delgado Huertas, A., 2013. Cinnabar mineralization in fossil small mammal remains as a consequence of diagenetic processes. Lethaia 46, 1–6. <https://doi.org/10.1111/let.12003>

- Gong, Q., Wang, X., Zhao, L., Grasby, S.E., Chen, Z.-Q., Zhang, L., Li, Y., Cao, L., Li, Z., 2017. Mercury spikes suggest volcanic driver of the Ordovician-Silurian mass extinction. *Sci. Rep.* 5304. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05524-5>
- Grasby, S.E., Shen, W., Yin, R., Gleason, J.D., Blum, J.D., Lepak, R.F., Hurley, J.P., Beauchamp, B., 2017. Isotopic signatures of mercury contamination in latest Permian oceans. *Geology* 45, 55–58. doi:10.1130/G38487.1
- Guilhen, S.N., Pires, M.A.F., Dantas, E.S.K.; Xavier, F.V., 2010. Validação de metodologia analítica para determinação de mercúrio total em amostras de urina por espectrometria de absorção atômica com geração de vapor frio (CV-AAS): estudo de caso. *Quím. Nova* 33, 1285–1290.
- Hillson, S. 1996. *Dental Anthropology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Holley, E.A., James McQuillan, A., Craw, D., Kim, J.P., Sander, S.G., 2007. Mercury mobilization by oxidative dissolution of cinnabar ( $\alpha$ -HgS) and metacinnabar ( $\beta$ -HgS). *Chem. Geol.* 240, 313–325. doi:10.1016/j.chemgeo.2007.03.001
- Hoppe, K.A., Koch, P.L., Furutani, T.T., 2003. Assessing the preservation of biogenic strontium in fossil bones and tooth enamel. *Int. J. Osteoarchaeol.* 13, 20–28. doi:10.1002/oa.663
- ISO/IEC, 1999. General requirements for the competence of calibration and testing laboratories. 17025.
- Jezierska, B., Witeska, M., 2006. The metal uptake and accumulation in fish living in polluted waters. In: Twardowska I., Allen H.E., Häggblom M.M., Stefaniak S. (eds) *Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation*. NATO Science Series, vol 69. Springer, Dordrecht
- Jones, D.S., Martini, A.M., Fike, D.A., Kaiho, K., 2017. A volcanic trigger for the late ordovician mass extinction? Mercury data from south china and laurentia. *Geology* 45, 631–634. doi:10.1130/G38940.1

- Kępa, M., Kozłowski, T., Szostek, K., Drozd, A., Walas, S., Mrowiec, H., Stepańczak, B., Głąb, H., Grupa, M., 2012. Analysis of mercury levels in historical bone material from syphilitic subjects – pilot studies (short report). *Anthropol. Anzeiger* 69, 367–377. <https://doi.org/10.1127/0003-5548/2012/0163>
- Khan, B., Tansel, B., 2000. Mercury bioconcentration factors in American alligators (*Alligator mississippiensis*) in the Florida Everglades. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 47, 54–58. <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1923>
- Klein, R.T., Lohmann, K.C., Thayer, C.W., 1996. Sr/Ca and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios in skeletal calcite of *Mytilus trossulus*: covariation with metabolic rate, salinity, and carbon isotopic composition of seawater. *Geochim. Cosmochim. Acta* 60, 4207–4221.
- Koch, P.L., Tuross, N., Fogel, M.L., 1997. The Effects of Sample Treatment and Diagenesis on the Isotopic Integrity of Carbonate in Biogenic Hydroxylapatite. *J. Archaeol. Sci.* 24, 417–429. doi:10.1006/jasc.1996.0126
- Kojadinovic, J., Le Corre, M., Cosson R.P., Bustamante P., 2007. Trace elements in three marine birds breeding on Reunion Island (Western Indian Ocean) part 1: factors influencing their bioaccumulation, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 52, 418–430.
- Kolodny, Y., Luz, B., Sander, M., Clemens, W.A., 1996. Dinosaur bones: Fossils or pseudomorphs? The pitfalls of physiology reconstruction from apatitic fossils. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 126, 161–171. doi:10.1016/S0031-0182(96)00112-5
- Kurunczi, S., Török, S., Chevallier, P., 2001. A micro-XRF study of the element distribution on the growth front of mussel shell (species of *Unio crassus* Retzius). *Mikrochim. Acta* 137, 41–48. <https://doi.org/10.1007/s006040170026>
- Lamborg, C.H., Fitzgerald, W.F., Damman, A.W.H., Benoit, J.M., Balcom, P.H., Engstrom, D.R., 2002. Modern and historic atmospheric mercury fluxes in both

hemispheres: Global and regional mercury cycling implications. *Global Biogeochem. Cycles* 16, 51-1-51-11. doi:10.1029/2001GB001847

Lécuyer, C., Bogey, C., Garcia, J.P., Grandjean, P., Barrat, J.A., Floquet, M., Bardet, N., Pereda-Superbiola, X., 2003. Stable isotope composition and rare earth element content of vertebrate remains from the Late Cretaceous of northern Spain (Laño): Did the environmental record survive? *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 193, 457–471. doi:10.1016/S0031-0182(03)00261-X

Lee-Thorp, J.A., Sealy, J.C., van der Merwe, N.J., 1989. Stable carbon isotope ratio differences between bone collagen and bone apatite, and their relationship to diet. *J. Archaeol. Sci.* 16, 585–599. doi:10.1016/0305-4403(89)90024-1

Liu, G., Cai, Y., O'Driscoll, N., 2012. Environmental Chemistry and Toxicology of Mercury, *Environmental Chemistry and Toxicology of Mercury*. doi:10.1002/9781118146644

Mason, R.P., Reinfelder, J.R., Morel, F.M.M., 1995. Bioaccumulation of mercury and methylmercury. *Water, Air, Soil Pollut.* 80, 915–921. doi:10.1007/BF01189744

Mays, S., 1998. The Archaeology of Human Bones, *American Anthropologist*. doi:10.4324/9780203194393

Meyer, K.W., Petersen, S.V., Lohmann, K.C., Blum, J.D., Washburn, S.J., Winkelstern, I.Z., 2017. Late Cretaceous volcanism and climate change inferred from THg in marine invertebrate fossils. *Goldschmidt 2017, Abstract*.

Montgomery, J., Budd, P., Cox, A., Krause, P., Thomas, R.G., 1999. LA-ICP-MS evidence for the distribution of lead and strontium in Romano-British, medieval and modern human teeth: implications for life history and exposure reconstruction, in: *Metals in Antiquity*. pp. 290–296.

- Morel, F.M.M., Kraepiel, A.M.L., Amyot, M., 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of Mercury. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29, 543–566. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.543>
- Munn, M.D., Short, T.M., 1997. Spatial heterogeneity of mercury bioaccumulation by walleye in Franklin D. Roosevelt Lake and the upper Columbia River, Washington. *Trans. Am. Fish. Soc.* 126, 477–487.
- Murray, M.S., McRoy, C.P., Duffy, L.K., Hirons, A.C., Schaaf, J.M., Trocine, R.P., Trefry, J., 2015. Biogeochemical analysis of ancient Pacific Cod bone suggests Hg bioaccumulation was linked to paleo sea level rise and climate change. *Front. Environ. Sci.* 3, 1–8. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2015.00008>
- Nriagu, J., Becker, C., 2003. Volcanic emissions of mercury to the atmosphere: Global and regional inventories, in: *Science of the Total Environment*. pp. 3–12. [doi:10.1016/S0048-9697\(02\)00552-1](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00552-1)
- Ohio Lumex. 2012. Mercury Analyzer RA-915+ User's Manual. Twinsburg, OH: Ohio Lumex Company Inc. 22p.
- Oliveira, C.E.M., Santucci, R.M., Andrade, M.B., Fulfaro, V.J., Basilio, J.A.F., Benton, M.J., 2011. Crocodylomorph eggs and eggshells from the Adamantina Formation (Bauru Group), Upper Cretaceous of Brazil. *Palaeontology* 54, 309–321. [doi:10.1111/j.1475-4983.2010.01028.x](https://doi.org/10.1111/j.1475-4983.2010.01028.x)
- Outridge, P.M., Hobson, K.A., McNeely, R., Dyke, A., 2002. A comparison of modern and preindustrial levels of mercury in the teeth of beluga in the Mackenzie Delta, Northwest Territories, and walrus at Igloodik, Nunavut, Canada. *Arctic* 55, 123–132.
- Panichev, N.A., Panicheva, S.E., 2015. Determination of total mercury in fish and sea products by direct thermal decomposition atomic absorption spectrometry. *Food Chem.* 166, 432–441. [doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.032](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.032)

- Paula e Silva, F., Kiang, C.H., Caetano-Chang, M.R., 2003. Perfis de referência do Grupo Bauru (K) no Estado de São Paulo. *Geociências UNESP* 22, 21–32. doi:10.4072/rbp.2004.3.07
- Percival, L.M.E., Ruhl, M., Hesselbo, S.P., Jenkyns, H.C., Mather, T.A., Whiteside, J.H., 2017. Mercury evidence for pulsed volcanism during the end-Triassic mass extinction. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, 7929–7934. <https://doi.org/10.1073/pnas.1705378114>
- Peterson, S.H., Ackerman, J.T., Eagles-Smith, C.A., Hartman, C.A., Herzog, M.P., 2017. A critical evaluation of the utility of eggshells for estimating mercury concentrations in avian eggs. *Environ. Toxicol. Chem.* 36, 2417–2427. <https://doi.org/10.1002/etc.3777>
- Preez, M., Govender, D., Kylin, H., Bouwman, H., 2018. Metallic elements in Nile Crocodile eggs from the Kruger National Park, South Africa. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 148. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.11.032
- Price, T.D., Blitz, J., Burton, J., Ezzo, J.A., 1992. Diagenesis in prehistoric bone: Problems and solutions. *J. Archaeol. Sci.* 19, 513–529. doi:10.1016/0305-4403(92)90026-Y
- Price, T.D., Knipper, C., Grupe, G., Smrcka, V., 2004. Strontium Isotopes and Prehistoric Human Migration: The Bell Beaker Period in Central Europe. *Eur. J. Archaeol.* 7, 9–40. doi:10.1177/1461957104047992
- Rainwater, T.R., Adair, B.M., Platt, S.G., Anderson, T.A., Cobb, G.P., McMurry, S.T., 2002. Mercury in Morelet's crocodile eggs from northern Belize. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 42, 319–324. doi:10.1007/s00244-001-0020-7
- Rasmussen, K.L., Kučera, J., Skytte, L., Kameník, J., Havránek, V., Smolík, J., Velemínský, P., Lynnerup, N., Bruzek, J., Vellej, J., 2013. Was he murdered or was he not?-Part I: Analyses of mercury in the remains of Tycho Brahe. *Archaeometry* 55, 1187–1195. doi:10.1111/j.1475-4754.2012.00729.x



- Rytuba, J.J., 2003. Mercury from mineral deposits and potential environmental impact. *Environ. Geol.* 43, 326–338. doi:10.1007/s00254-002-0629-5
- Santucci, R.M., Bertini, R.J., 2001. Distribuição paleogeográfica e biocronológica dos titanossauros (Saurischia, Sauropoda) do Grupo Bauru, Cretáceo Superior do sudeste brasileiro. *Rev. Bras. Geociências* 31, 307–314.
- Schaefer, J.K., Rocks, S.S., Zheng, W., Liang, L., Gu, B., Morel, F.M.M., 2011. Active transport, substrate specificity, and methylation of Hg(II) in anaerobic bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 8714–8719. doi:10.1073/pnas.1105781108
- Schuster, E., 1991. The behaviour of mercury in the soil with special emphasis on complexation and adsorption processes-A review of the literature. *Water Air soil Pollut.* 56, 667–680. doi:10.1007/BF00342308
- Selin, N.E., 2009. Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 34, 43–63. <https://doi.org/10.1146/annurev.environ.051308.084314>
- Sial, A.N., Lacerda, L.D., Ferreira, V.P., Frei, R., Marquillas, R.A., Barbosa, J.A., Gaucher, C., Windmüller, C.C., Pereira, N.S., 2013. Mercury as a proxy for volcanic activity during extreme environmental turnover: The Cretaceous-Paleogene transition. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 387, 153–164. doi:10.1016/j.palaeo.2013.07.019
- Skyllberg, U., 2010. Synchrotron-Based Techniques in Soils and Sediments, *Developments in Soil Science*. doi:10.1016/S0166-2481(10)34013-X
- Soldati, A.L., Jacob, D.E., Glatzel, P., Swarbrick, J.C., Geck, J., 2016. Element substitution by living organisms: The case of manganese in mollusc shell aragonite. *Sci. Rep.* 6, 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep22514>

- Souza, L.M. Estudo da sorção de Mercúrio em hidroxiapatita, Rio de Janeiro, 2015, 22p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- Suda, I., Takahashi H., 1990. Effect of reticuloendothelial system blockade on the biotransformation of methyl mercury in the rat. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology* 14, 609–615.
- Thibodeau, A.M., Ritterbush, K., Yager, J.A., West, A.J., Ibarra, Y., Bottjer, D.J., Berelson, W.M., Bergquist, B.A., Corsetti, F.A., 2016. Mercury anomalies and the timing of biotic recovery following the end-Triassic mass extinction. *Nat. Commun.* 7, 11147. doi:10.1038/ncomms11147
- Thode, H.G., 1991. Sulphur Isotopes in Nature and the Environment : An Overview. *Stable Isot. Assess. Nat. Anthropol. Sulphur Environ. SCOPE* 1–26.
- Thompson, D.R., Hamer, K.C., Furness, R.W., 1991. Mercury accumulation in great skuas *Catharacta skua* of known age and sex, and its effects upon breeding and survival. *Jour. Appl. Ecol.*, 28, 672–684.
- Trillanes, C.E., Pérez-Jiménez, J.C., Rosiles-Martínez, R., González-Jáuregui, M., 2014. Metals in the caudal scutes of Morelet’s crocodile (*Crocodylus moreletii*) from the southern Gulf of Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 93, 423–428. doi:10.1007/s00128-014-1349-8
- Trueman, C. N., Tuross, N., 2002. Trace elements in recent and fossil bone apatite. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry* 48, 489–521.
- Turner, S., Regelous, M., Kelley, S., Hawkesworth, C., Mantovani, M., 1994. Magmatism and continental break-up in the South Atlantic: high precision  $^{40}\text{Ar}$ - $^{39}\text{Ar}$  geochronology. *Earth Planet. Sci. Lett.* 121, 333–348. [https://doi.org/10.1016/0012-821X\(94\)90076-0](https://doi.org/10.1016/0012-821X(94)90076-0)

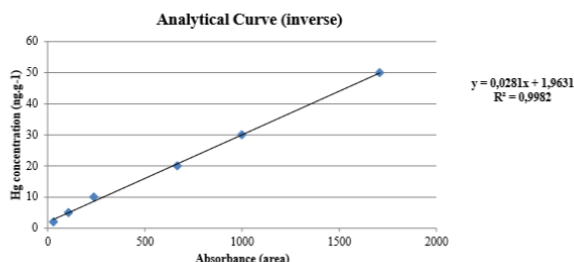
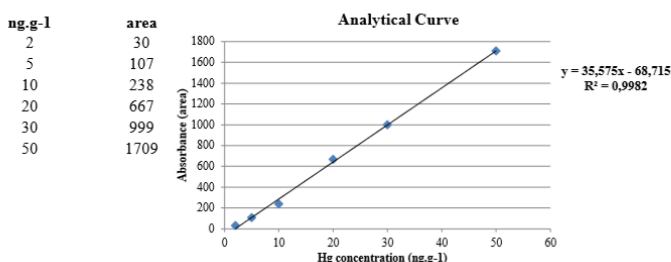
- Ullrich, S.M., Tanton, T.W., Abdrashitova, S.A., 2001. Mercury in the Aquatic Environment: A Review of Factors Affecting Methylation. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 31, 241–293. doi:10.1080/20016491089226
- US-FDA (Food and Drug Administration), 2000. Analytical procedures and methods validation. *Fed. Reg.* 65, 776–777.
- Vessman, J., Stefan, R.I., Van Staden, J.F., Danzer, K., Lindner, W., Burns, D.T., Fajgelj, A. Muller, H., 2001. Selectivity in analytical chemistry. *Pure Appl. Chem.* 73, 1381–1386. doi:10.1351/pac200173081381
- Watras, C.J., Back, R.C., Halvorsen, S., Hudson, R.J.M., Morrison, K.A., Wentz, S.P., 1998. Bioaccumulation of mercury in pelagic freshwater food webs, in: *Science of the Total Environment*. pp. 183–208. doi:10.1016/S0048-9697(98)00228-9
- WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirty-second report., 1992. *World Heal. Organ. - Tech. Rep. Ser.* 823, 1–134.
- Xu, L.Q., Liu, X.D., Sun, L.G., Chen, Q.Q., Yan, H., Liu, Y., Luo, Y.H., Huang, J., 2011. A 700-year record of mercury in avian eggshells of Guangjin Island, South China Sea. *Environ. Pollut.* 159, 889–896. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.12.021>
- Xu, Q., Fang, S., Wang, Z., Wang, Z., 2006. Heavy metal distribution in tissues and eggs of Chinese alligator (*Alligator sinensis*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50, 580–586. doi:10.1007/s00244-005-1018-3
- Zazzo, A., Lécuyer, C., Mariotti, A., 2004. Experimentally-controlled carbon and oxygen isotope exchange between bioapatites and water under inorganic and microbially-mediated conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta* 68, 1–12. doi:10.1016/S0016-7037(03)00278-3

# ANEXO – Informações Suplementares

1. Baurusuchidae adult - Fernandópolis - Eggshell - JA03-e				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
170	624	40	19,47196065	-
200	331	20	11,23583978	-
180	343	20	11,57315531	-
		Mean =	14,0937	-
		SD =	4,6608	-

2. Baurusuchidae adult - Fernandópolis - Eggshell - JA04-e				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
200	315	23	10,78608573	-
224	390	22	12,8943078	-
222	303	25	10,4487702	-
		Mean =	11,3764	-
		SD =	1,3253	-

Calibration Curve of JA03-e and JA04-e



3. Baurusuchidae adult - Jales - JA01-o				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
200mg	103	3	7,0079	6,9658
201mg	104	3	7,0659	7,0238
204mg	104	3	7,0659	7,0238
		Mean =	7,0466	7,0045
		SD =	0,0335	0,0335

4. Baurusuchidae - adult - Jales - JA01-t				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
202mg	215	4	13,5039	13,4650
200mg	215	5	13,5039	13,4650
202mg	203	4	12,8079	12,7686
		Mean =	13,2719	13,2328
		SD =	0,4018	0,4020

5. Baurusuchidae - adult - Jales - JA01-b				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
198mg	200	4	12,6339	12,5945
201mg	205	5	12,9239	12,8847
200mg	205	4	12,9239	12,8847
		Mean =	12,8272	12,7880
		SD =	0,1674	0,1675

6. Rock matrix - Jales - JA01-sd				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
205mg	41	3	3,4119	3,3681
214mg	44	4	3,5859	3,5421
201mg	41	3	3,4119	3,3681
		Mean =	3,4699	3,4261
		SD =	0,1005	0,1005

7. Baurusuchidae - adult - Fernandópolis - FE01-b				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
200mg	203	4	12,8079	12,7686
204mg	208	5	13,0979	13,0588
200mg	203	3	12,8079	12,7686
		Mean =	12,9046	12,8653
		SD =	0,1674	0,1675

8. Baurusuchidae - adult - Fernandópolis - FE01-t				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
207mg	201	4	12,6919	12,6526
200mg	205	4	12,9239	12,8847
201mg	200	3	12,6339	12,5945
		Mean =	12,7499	12,7106
		SD =	0,1535	0,1535

9. Rock Matrix - Fernandópolis - FE03-sd				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
215mg	32	4	2,8899	2,8458
257mg	24	3	2,4259	2,3816
	29	3	2,7159	2,6721
		Mean =	2,6772	2,6332
		SD =	0,2344	0,2345

10. Baurusuchidae Juvenile - Fernandópolis - FE02-b				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
200mg	140	14	9,1539	9,1143
201mg	139	11	9,0959	9,0563
204mg	143	14	9,3279	9,2885
		Mean =	9,1926	9,1530
		SD =	0,1207	0,1208

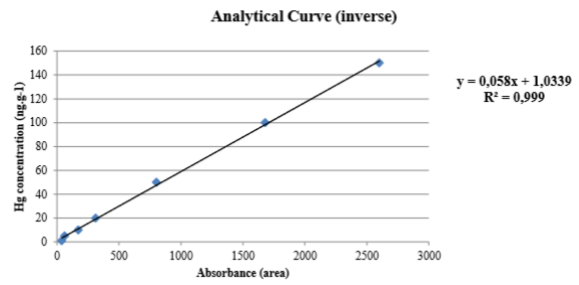
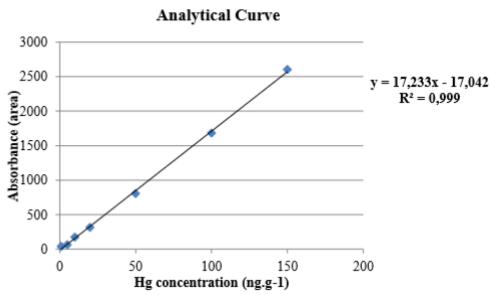
11. Baurusuchidae Juvenile - Fernandópolis - FE02-o				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
203mg	76	10	5,4419	5,3990
200mg	64	6	4,7459	4,7027
200mg	50	5	3,9339	3,8903
		Mean =	4,7072	4,6640
		SD =	0,7547	0,7551

12. Baurusuchidae adult - Fernandópolis - Eggshell - FE03-e				
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
260mg	1323	111	77,7602	-

\*Normalized for a mass of 200 mg.

**Calibration Curve of teeth, bones, osteoderms, and the eggshell FE03-e**

ng.g-1	area
1	39
5	63
10	173
20	313
80	803
100	1680
150	2600



**13. Basalt (botom portion) - Santa Rita Passa Quatro**

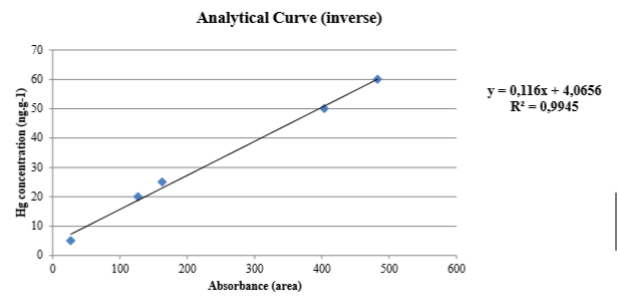
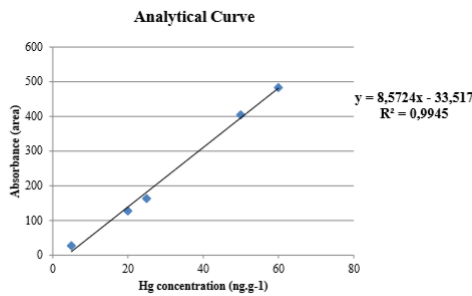
sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
240mg	11	2	5,193061453	-
234mg	39	3	8,459357939	-
245mg	72	4	12,30892166	-
<b>Mean =</b>			8,6538	-
<b>SD =</b>			3,5619	-

**14. Basalt (top portion) - Uberaba**

sample mass (mg)	area	maximum	ng.g-1 (1)	ng.g-1 (2)
215mg	86	4	13,9420699	-
200mg	14	4	5,543021791	-
<b>Mean =</b>			9,7425	-
<b>SD =</b>			5,9390	-

**Calibration Curve of basaltic rocks**

ng.g-1	area
5	27
20	127
25	163
50	404
60	483

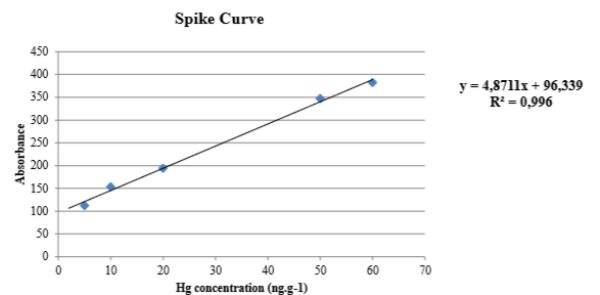


The values depicted in ng.g-1 (1) and ng.g-1 (2) refer to the values of Analytical Curve and Analytical Curve (inverse), respectively.

Spike (25 ng.g-1)		Concentration (Hg)	Recovery (%)
200mg	146	24	20,94128
200mg	160	12	22,57442
203mg	160	10	22,57442
203mg	208	14	28,17379
204mg	151	17	21,52454
200mg	211	14	28,52375
<b>Mean =</b>		24,05203521	96,20814
<b>SD =</b>		3,388710658	13,55484263

Spike (10 ng.g-1)		Concentration (Hg)	Recovery (%)
201mg	154	11,83737	118,373673
212mg	145	9,989735	99,8973538
202mg	143	9,57915	95,791505
<b>Mean =</b>		10,9135525	100,46875
<b>SD =</b>		1,306475238	9,82166937
Spike (60 ng.g-1)		Concentration (Hg)	Recovery (%)
215mg	391	60,49168	100,8195
205mg	403	62,95518	104,9253
215mg	399	62,13401	103,5567
<b>Mean =</b>		61,86029	103,1005
<b>SD =</b>		1,741964	2,903274

Blank test	Spiking results	
Results	Spike concentration (ng.g-1)	Recovery (%)
0	10	112,6951612
5	25	104,6875
1	60	103,1004861
0		
5		
0		
0		
<b>Mean =</b>	1,571429	<b>Média =</b> 106,86
<b>SD =</b>	2,370453	<b>SD =</b> 4,2
<b>LOD =</b>	1,492763	



## **CAPÍTULO 4**

**Bioacumulação e biomagnificação de Hg em vertebrados fósseis do Grupo Bauru (Cretáceo): uma nova metodologia para reconstrução de relações ecológicas em paleoecossistemas**

## RESUMO

Neste trabalho determinamos a quantidade de mercúrio total (HgT) em fósseis de vertebrados do Cretáceo continental encontrados em rochas do Grupo Bauru e investigamos a dinâmica deste elemento como contaminante biológico nos paleoecossistemas. Os materiais analisados foram coletados nas formações Adamantina, Marília e Uberaba do Grupo Bauru e correspondem a sedimentos e fósseis de dentes, ossos, placas dérmicas, escamas de peixes, carapaças de tartarugas e casca de ovos referentes a peixes, testudines, anfíbios, crocodilomorfos, dinossauros (saurópodes e terópodes) e aves. As amostras foram submetidas à espectrometria de absorção atômica Zeeman, sendo determinadas em uma matriz biomineralizada concentrações que variaram entre 2ppb e 60ppb. Foram registradas leves flutuações nos valores de mercúrio nas diferentes matrizes analíticas, prevalecendo dentes e ossos como os materiais com a melhor capacidade de aprisionamento de Hg e os mais indicados para este tipo de análise. Os resultados apontam diferentes concentrações de Hg entre os táxons analisados e valores relativamente iguais para espécimes pertencentes a um mesmo grupo, independentemente da formação geológica em que foram encontrados. Os táxons analisados foram posicionados em níveis tróficos. A bioacumulação foi descrita na diferença dos valores de Hg entre indivíduos jovens e adultos de *Crocodylomorpha* com até 38% mais Hg para o adulto, este fenômeno foi relacionado à contínua exposição dos crocodilomorfos ao Hg em seus paleoecossistemas. Este estudo, de maneira inédita, revela o potencial da bioacumulação de Hg em fósseis de vertebrados para a Paleontologia, uma vez que foi possível determinar em uma evidência direta de predação em crocodiliformes (fóssil in fóssil) a biomagnificação trófica, com aproximadamente 50% mais Hg para o predador analisado.

## 4.1. INTRODUÇÃO

Inúmeros estudos investigam o potencial e plasticidade molecular do metal mercúrio (Hg) de bioacumular em organismos e biomagnificar progressivamente ao longo de cadeias tróficas de ecossistemas (Dietz et al., 1990; Cabana et al., 1994; Choi et al., 1994; Boudou et al., 1995; Morel et al., 1998; Fitzgerald, 2007; Selin, 2009; Aubail et al., 2012; Ostertag et al., 2013).

No entanto, detectar e medir o mercúrio total em uma rede alimentar e, conseqüentemente, rastrear sua dinâmica em um ecossistema são atividades de alta complexidade, por serem considerados ambientes heterogêneos, múltiplos grupos funcionais e interação entre espécies de vários níveis (Hussey, et al., 2014).

Como causa e efeito existe um desacordo de resultados e questionamentos de pares científicos à capacidade dos métodos de pesquisa mais tradicionais em avaliar e descrever com precisão cadeias e teias tróficas (Atwel et al., 1998; Pineda-Munoz & Alroy, 2014). Principalmente, por muitos trabalhos reportarem metodologias essencialmente baseadas em observação e análise de conteúdo estomacal de animais coletados (Rowan & Rasmussen 1992; Futter, 1994), sendo evidenciados apenas momentos reais de comportamento alimentar para estações do ano, estágios de vida ou localização (Atwel et al., 1998). Factualmente, este tipo de metodologia não pode ser aplicado a estudos paleontológicos pela falta destas variáveis, salvo raras exceções de evidência diretas para predação encontradas em fósseis, com animais alocados na cavidade abdominal do predador (e.g. Xing et al., 2012; Godoy et al., 2014).

Em contrapartida, muitos trabalhos utilizam técnicas analíticas como a espectrometria de absorção atômica e a espectrometria de massa ao determinar mercúrio total e razão de isótopos estáveis em tecidos biomineralizados como ossos e dentes de animais (e.g. Peterson & Fry, 1987; Hobson et al., 1992; Atwel et al., 1998; Ubillús et al., 2000; Campbel et al., 2005; Aubail et al 2012; Layman et al., 2012).

Esse tipo de metodologia permite obter informações precisas e contínuas à ação do tempo, capazes de caracterizar quantitativamente a posição trófica de animais em seus ecossistemas (Atwel et al., 1998), sendo potencialmente aplicável a animais e ambientes pretéritos.

Entretanto, exclusivamente a geoquímica de isótopos estáveis tem sido aplicada a Paleontologia de Vertebrados. Por exemplo, trabalhos de Wang & Cerling (1994), Hilderbrand et al. (1996), Koch et al. (1997), Lécuyer et al. (2003), Straight et al.



(2004), White et al. (2009), Aubail et al. (2012), Amiot et al. (2015) utilizam desse tipo de análise para determinar fisiologia, dietas, preferências de habitats, posições tróficas e sua correlação com ambientes terrestres e marinhos, além de características climáticas de paleoambientes.

Apesar de estudos recentes descreverem em ambientes pretéritos eventos de extinção em massa e a sua correlação com vulcanismo através da determinação de Hg total em rochas sedimentares (Percival et al., 2017; Thibodeau et al., 2016; Font et al., 2016), apenas Cardia et al. (2018) evidenciaram diretamente em fósseis de crocodyliformes do Cretáceo esse tipo de relação, sendo inclusive descrita a bioacumulação de Hg por esses animais nos paleoecossistemas do Grupo Bauru de idade cretácea.

O Grupo Bauru é uma unidade geológica sedimentar localizada no Sudeste brasileiro e conhecida por sua importância para a biota fóssil do Cretáceo Superior continental (Batezelli et al., 2003; Candeiro et al., 2006; Geroto e Bertini, 2014). Em seus depósitos os principais grupos de vertebrados fósseis encontrados e estudados pertencem aos táxons de peixes, anfíbios, testudinos, crocodylomorfos notosuquios, dinossauros (saurópodes e terópodes), aves e mamíferos (e.g. Estes & Price, 1973; Baez & Peri, 1989; Bertini et al., 1993; Kellner e Azevedo, 1999; Santucci e Bertini, 2001; Alvarenga & Nava, 2005; Candeiro, 2006; Bittencourt & Langer, 2011; Iori e Carvalho, 2011; Montefeltro et al., 2011; Tavares et al., 2014).

Os materiais encontrados são fragmentados e bem preservados, porém, elementos completos são escassos, sendo principalmente amostrados carapaças e plastrões de testudinos, dentes e esqueletos fragmentados e/ou completos de crocodyliformes, restos apendiculares de dinossauros saurópodes, dentes de dinossauros terópodes, escamas de peixes e ossos pneumáticos para aves (Alvarenga & Nava, 2005; Azevedo, 2013; Geroto e Bertini, 2014).

Ainda, recentemente Godoy et al. (2014) relatam uma evidência direta de predação entre duas espécies de crocodylomorfos. Os autores reportam que o fóssil corresponde a uma nova espécie de Baurusuchidae com restos de um sphagessaurídeo em sua cavidade abdominal. Ainda que seja capaz de descrever com precisão hábitos alimentares e categorizar troficamente os animais avaliados, este trabalho representa uma evidência excepcional e de rara aplicação ao conhecimento paleontológico.

Apesar da paleofauna da Bacia Bauru ser bem retratada, grande parte dos trabalhos que a representam inferem hábitos alimentares, relações interespecíficas e

nicho ecológico dos espécimes analisados essencialmente por dados de descrição morfológica, anatomia comparada, sedimentologia e estratigrafia.

Considerando o fator da raridade de evidências direta para descrição de relações interespecíficas em fósseis, a escassez de informações precisas com capacidade quantitativa de posicionar em níveis tróficos espécimes analisados e, em contrapartida, a disponibilidade destes materiais referentes aos táxons de vertebrados fósseis do Grupo Bauru, objetivamos aqui determinar a concentração de Hg em fósseis e discutir os fenômenos de bioacumulação e biomagnificação trófica em que estes animais estavam submetidos em seus paleoecossistemas.

## **4.2.MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.2.1. Área de estudo**

Os materiais foram coletados nos sedimentos das formações de Adamantina (nos estados de São Paulo e Minas Gerais), Uberaba (Minas Gerais) e Marília (São Paulo e Minas Gerais), do Grupo Bauru (Figura 4.1). Localizado entre as latitudes entre 18°S e 24°S e longitudes 47°W e 56°W, o Grupo Bauru é unidade geológica descrita como um sistema deposicional continental, formado pelo acúmulo de sequência sedimentar arenosa, assentada sobre 2.000m de basaltos no centro da placa Sul-americana, durante o Neocretáceo (Fulfaro & Perinotto, 1996; Fernandes & Coimbra, 2000; Dias-Brito et al., 2001; Paula & Silva et al., 2003). O seu preenchimento ocorreu sob domínio de clima semiárido a árido onde se desenvolveram sistemas deposicionais fluviais (formações Adamantina/Uberaba) e aluviais (Formação Marília) durante o final do Cretáceo (Lima et al., 1986; Fernandes & Coimbra, 2000; Santucci & Bertini, 2001; Tavares et al., 2014).

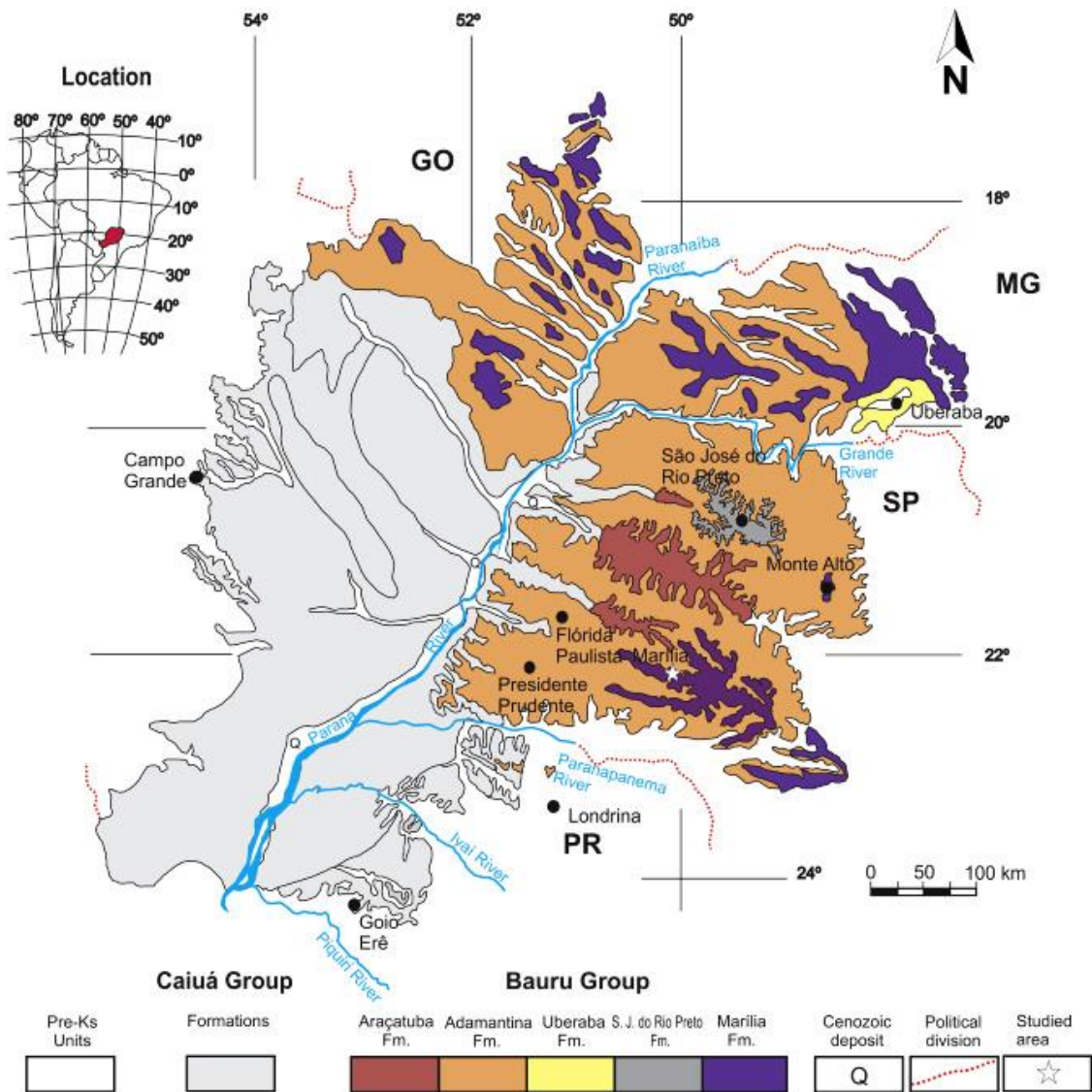


Figura 4.1 - Mapa geológico do Grupo Bauru. Modificado de Fernandes (1998), Fernandes & Coimbra (1996).

#### 4.2.2. Procedimento de Amostragem e Preparação

As amostras são compostas por arenitos e estruturas biomineralizadas (i.e. hidroxiapatita) de ossos, dentes, placa dérmica, escamas, ovos (i.e. carbonáticos), além de coprólitos, representando grupos como peixes, testudines, Crocodylomorpha, Dinosauria (Sauropoda e Theropoda, incluindo aves) que aqui foram analisados.

Todos os materiais analisados estão bem preservados, relativamente completos e com os sedimentos circundantes registrados, o que favorece à identificação taxonômica, a diminuição dos potenciais efeitos diagenéticos na composição química original dos materiais e a qualidade das medidas analíticas. Apenas com relação aos ovos não há

garantia de sua identificação taxonômica precisa, pois até o momento não foram encontradas evidências diretas de sua associação com Baurusuchidae (Oliveira et al., 2011).

A etapa inicial do tratamento dos materiais consistiu na seleção de amostras homogeneamente mais preservadas e sem fraturas, seguido da remoção mecânica de sedimentos. Os sedimentos removidos também foram analisados quanto à determinação de Hg total, uma vez que comparação da concentração de Hg do sedimento e tecidos biomineralizados, pode ser utilizada como indicativo de contaminação ou perda por compostos atuais e/ou ocorridos durante a diagênese. A limpeza do material pós-retirada de sedimento foi realizada com ácido nítrico a 10% por 10s para dentes, seguido de pelo menos três enxaquamentos separados em água Mili-Q ultrapura (deionizada a 18,2 MΩ) e secagem à temperatura ambiente por 24 horas. Para o restante dos materiais, a limpeza foi feita apenas com água Mili-Q ultrapura, por considerar que a apatita desses materiais é mais porosa e, conseqüentemente, mais sensível ao tratamento do ácido nítrico. Todas as amostras foram secas à temperatura ambiente e transformadas em pó homogêneo por um sistema de placas de vidro, sendo armazenadas em ependorffs de plástico esterilizados.

As matrizes analíticas biomineralizadas dos fósseis e seus sedimentos associados foram relacionados em triplicata e submetidos à Espectrometria de Absorção Atômica com correção Zeeman.

#### **4.2.3. Procedimentos Analíticos e Instrumentação para Análise de Hg**

As medições da concentração de Hg foram realizadas no Laboratório de Química Analítica e Ambiental (LQAA) da Universidade de Brasília (UnB), Brasil, utilizando o Analisador Zeeman Portátil de Mercúrio RA 915+ com módulo PYRO 915+ da Ohio Lumex®. O princípio de funcionamento do equipamento é baseado no efeito Zeeman e considera a partir de uma fonte de radiação (uma lâmpada de mercúrio) a divisão da linha de ressonância do mercúrio ( $\lambda=254\text{nm}$ ) em três componentes ( $\pi, \sigma-, \sigma+$ ). Ao longo das linhas do campo magnético apenas a radiação dos componentes  $\sigma$  serão registradas, no qual um componente passará dentro de uma célula analítica e outro fora. Esta célula analítica armazena o vapor de mercúrio resultado da pirólise da matriz analítica a 800°. Logo, na ausência de mercúrio a intensidade de ambos os componentes  $\sigma$  será igual e caso haja átomos desse elemento na célula

analítica, será diferente, uma vez que os átomos causam uma diferença proporcional na intensidade dos componentes, o que possibilita a construção de uma resposta de sinal analítico em concentração. A absorção de fundo é eliminada pela alta frequência do sistema de correção Zeeman. O conteúdo de Hg na amostra é determinado a partir da curva de calibração da concentração de Hg (ou quantidade absoluta de Hg (ng)) em relação ao sinal analítico integrado. (Ohio/Lumex, 2012; Pachinev & Pachineva, 2015).

As amostras foram pesadas em triplicata por balança analítica, sendo aproximadamente 200mg de matriz submetido à pirólise entre 750° e 800°C por 60s.

Por não existir material de referência comercial de matriz fóssil ou tecido biomineralizado como osso e dente para Hg, utilizamos o padrão analítico SRM1400 (cinzas ósseas) do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, EUA (NIST). Este padrão é o que melhor representa a estrutura molecular encontrada no tecido fóssil (dentes, ossos e placa dérmica) que são compostos em quase sua totalidade por hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), um fosfato de cálcio (Hillson 1996, Mays 1998). As cinzas ósseas do NIST são calcinadas a alta temperatura e por isso não possuem Hg em composição, sendo realizada sua fortificação (*spiking*) em três diferentes concentrações de Hg (i.e. concentrações de 10, 25 e 60  $\text{ng.g}^{-1}$  de Hg).

A validação de um novo método é uma etapa importante, pois confirma se sua capacidade de desempenho apresentada através de testes e evidências objetivas é consistente com o que a aplicação requer (WHO, 1992; Eurachem Working Group, 1998; ISO/IEC 17025).

A qualidade das medidas analíticas de Hg realizadas pelo Lumex RA 915+ foi assegurada pelos ensaios de recuperação no material de referência certificado 1400 NIST, mostrando uma exatidão de 106,83% da concentração atribuída durante o *spiking* e a precisão em desvio padrão de 4,19%. A linearidade foi investigada para concentrações na faixa de trabalho entre o intervalo de 2,0 e 150  $\text{ng.g}^{-1}$  de Hg, sendo o melhor coeficiente de correlação obtido igual a 0,999. O limite de detecção (LD) calculado foi 1,49  $\text{ng.g}^{-1}$  (Vide figuras de mérito e triplicatas analíticas na secção Anexos).

Os dados foram submetidos sequencialmente aos testes estatísticos Komolgorov-Smirnof para normalidade, Mann Whitney/Bilateral para o teste da hipótese nula e Análise de Cluster por distanciamento euclidiano para o agrupamento dos espécimes em categorias conforme a quantidade de Hg. Todos os testes foram realizados por meio do Software XLSTATIC (v.19.5).

### 4.3.RESULTADOS

Os resultados (tabela 4.1) reportam uma variação de 1,66 a 77,76 ng.g<sup>-1</sup> de Hg nos tecidos biomineralizados analisados e de 0,00 a 5,75 ng.g<sup>-1</sup> na rocha diretamente associada a esses materiais. Estima-se, portanto, uma diferença entre os máximos valores de até 92,7% mais Hg no material fóssil em relação ao material rochoso, que pode ser relacionado como um forte indício da não contaminação diagenética. Os táxons referentes a Baurusuchidae (Crocodylomorpha) e Abelissauridea (Theropoda) da Formação Adamantina, apresentaram em média os maiores valores de concentração para HgT (entre 10,0 e 14,0ng.g<sup>-1</sup>). Na sequência, estão crocodiliformes como peirosaurídeos (9,15ng.g<sup>-1</sup>), sphagesaurídeos, incluindo o gênero *Caipirasuchus* (~6,0ng.g<sup>-1</sup>), aves (5,71ng.g<sup>-1</sup>) e testudinos (5,86ng.g<sup>-1</sup>) reportando valores intermediários de HgT entre os táxons analisados. Os menores valores são registrados para os táxons de titanossaurídeos das formações Adamantina, Uberaba e Marília com valores médios próximos (~4,0ng.g<sup>-1</sup>), peixes Lepisosteiformes (3,49ng.g<sup>-1</sup>), anuro (2,34ng.g<sup>-1</sup>) e tartaruga do gênero *Roxochelys* (1,72ng.g<sup>-1</sup>). Os valores medidos entre indivíduos juvenis e adultos de crocodiliformes (*Pisarrachampsa*, Baurusuchidae e *Caipirasuchus*) reportam uma diferença entre 17% a 38% mais Hg nos ossos dos indivíduos adultos. Entre os táxons adultos dos crocodiliformes aqui analisados (Tabela 4.1), os valores máximo e mínimo encontrados para os espécimes de Baurusuchidae (~13,0ng.g<sup>-1</sup>) e *Adamantinasuchus* (~3,0ng.g<sup>-1</sup>), apresentam uma diferença de 77% em uma faixa ampla de concentrações registradas para os fósseis de crocodilomorfos. Destacam-se as medições realizadas no “fóssil in fóssil”, um caso excepcional de evidência fóssil de predação, em que um crocodiliforme é descrito na cavidade abdominal de outro crocodiliforme, sendo determinado nas matrizes ósseas do *Aplestosuchus* (Baurusuchidae), evidente predador, o valor de 12,97 ng.g<sup>-1</sup> e do Sphagesauridae, evidente presa, 6,27 ng.g<sup>-1</sup> de Hg. Ainda, análises de isótopos estáveis realizadas em dentes de baurusuquídeos de Jales (Fm. Adamantina) reportaram valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -2,04 e -4,04‰. Já as análises isotópicas para <sup>18</sup>O foram inconclusivas.

**Tabela 4.1** - Registro dos valores de HgT analisado em diferentes matrizes analíticas dos principais táxons de vertebrados fósseis encontrados no Grupo Bauru, conforme as suas unidades geológicas em que foram coletados.

Táxon	Unidade	Localidade	Número	Matriz analítica	Concentração (ng.g <sup>-1</sup> )	Desvio Padrão (SD)
<b>Lepisosteidae</b>	Fm Adamantina	Monte Alto	Ma02	Escama	4,785	1,66%
<b>Lepisosteidae</b>	Fm Adamantina	Tartaruguito	FUPNI13	Escama	3,4026	0,30%
<b>Anuro</b>	Fm Adamantina	Catanduva	FUPNI09	osso	2,3428	0,03%
<b>Anuro</b>	Fm Adamantina	Catanduva	FUPNI09b	Rocha	0	0,00%
<b>Tartaruga Roxochelys</b>	Fm Adamantina	Monte Alto (Macacão)	FUPNI10	Carapaça	1,6658	0,66%
<b>Rocha associada a Tartaruga Roxochelys</b>	Fm Adamantina	Monte Alto	FUPNI10b	rocha	0	0,00%
<b>Tartaruguito Tartaruga</b>	Fm Adamantina	Pres.Prudente	FUPPV00021	Carapaça	5,6326	0,46%
<b>Tartaruguito Tartaruga</b>	Fm Adamantina	Pres. Prudente	FUPPV00021	Rocha	5,3603	0,63%
<b>Tartaruga BR 050km153</b>	Fm Uberaba	Uberaba	FUPPV000027	Carapaça	1,3842	0,14%
<b>Baurusuchidae adulto</b>	Fm Adamantina	Jales	JA01-P	placa dérmica	7,0044	0,03%
<b>Baurusuchidae adulto</b>	Fm Adamantina	Jales	JA01-D	dente	13,2328	0,40%
<b>Baurusuchidae adulto</b>	Fm Adamantina	Jales	JA01-O	Osso	12,7879	0,16%
<b>Rocha associada</b>	Fm Adamantina	Jales	JA-01-R	Rocha	3,426	0,10%
<b>Baurusuchidae adulto</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	FE01-O	Osso	12,8653	0,16%
<b>Baurusuchidae adulto</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	FE01-D	Dente	12,7105	0,15%
<b>Rocha associada</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	FE-01-R	Rocha	2,6139	0,32%
<b>Baurusuchidae juvenil</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	FE02-O	Osso	9,1128	0,00%
<b>Baurusuchidae juvenil</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	FE02-P	placa dérmica	4,664	0,75%
<b>Baurusuchidae adulto</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	FE03-OV (ja0401)	Ovo	77,7601	0,00%
<b>Rocha associada Ovo</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	FE03-R	Rocha	2,6434	0,34%
<b>Sphagesauridae</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	FUPNI01	Dente	5,7899	1,57%
<b>Sphagesauridae</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	FUPNI02	osso	4,0585	2,16%
<b>Sphagesauridae</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	FUPNI03	placa dérmica	5,2109	0,03%
<b>Morrinhosuchus</b>	Fm Adamantina	Monte Alto Bairro Barreiro	FUPNI05	Osso	3,184	1,46%
<b>Caipirasuchus</b>	Fm Adamantina	Catanduva	MPMA68-0003-12	Osso	5,1767	0,03%
<b>Caipirasuchus</b>	Fm Adamantina	Catanduva	MPMA68-0003-12	Rocha	3,0198	1,84%
<b>Caipirasuchus paulistanus Holótipo</b>	Fm Adamantina	Monte Alto	MPMA67-0001-00	Osso	5,7085	2,31%
<b>Caipirasuchus paulistanus</b>	Fm Adamantina	Monte Alto	MPMA67-0001-00	rocha	2,9231	1,72%
<b>Maríliasuchus</b>	Fm Adamantina	Marília	FUPPV000018	dente	2,7104	0,69%
<b>Maríliasuchus</b>	Fm Adamantina	Marília	FUPPV000018	rocha	2,4202	0,62%
<b>Adamatinasuchus</b>	Fm Adamantina	Marília	FUPPV000019	Osso	2,9618	0,94%
<b>Peirosaurideo</b>	Fm	Presidente	FUPPV000023	dente	9,1515	2,69%

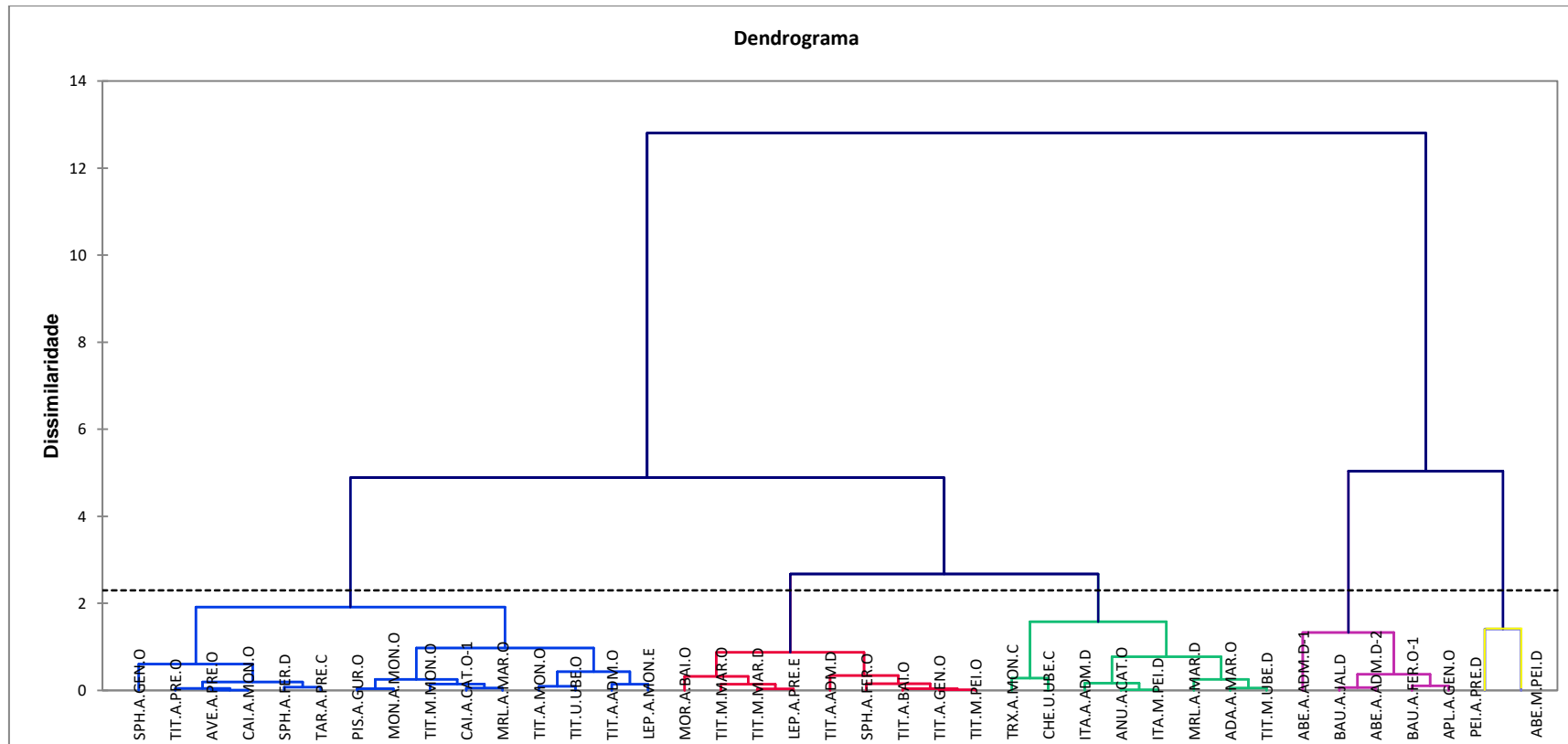
	Adamantina	Prudente				
<b>*Aplestosuchus (Baurusuchidae)</b>	Fm Adamantina	General Salgado	LPRP-USP 0229 <sup>a</sup>	osso coste	12,9699	0,44%
<b>*Sphagesaurídeo</b>	Fm Adamantina	General Salgado	LPRP-USP 0229 <sup>b</sup>	Osso	6,2721	1,80%
<b>*Rocha FinF</b>	Fm Adamantina	General Salgado	LPRP-USP 0229	Rocha	5,3097	0,61%
<b>Itasuchus Ponto 1</b>	Fm Marília	Peirópolis	FUPPV000024	Dente	2,3572	0,21%
<b>Itasuchus</b>	Fm Adamantina	Adamantina	FUPPV000033	Dente	2,1881	0,01%
<b>Pisarrachampsia adulto</b>	Fm Adamantina – MG	Gurinhata	0019lprp	Osso	5,1089	0,05%
<b>Pisarrachampsia juvenil</b>	Fm Adamantina-MG	Gurinhata	0049lprp	Osso	4,2578	0,43%
<b>Montealtosuchus</b>	Fm Adamantina	Monte alto	MPMA16-0007-04	Osso	5,0696	2,56%
<b>Barreirosuchus</b>	Fm Adamantina	Monte alto	MPMA04-0002-00	Osso	0	0,00%
<b>Caipirasuchus – juvenil</b>	Fm Adamantina	Catanduva	MPMA68-0004-12	Osso	3,2326	0,08%
<b>Baurusuchidae</b>	Fm Adamantina	Campina verde MG	FUPPV000029	Dente	Análise não conclusiva	-----
<b>Maríliasuchus</b>	Fm Adamantina	Marília	FUPPV000034	Osso	5,2323	0,76%
<b>Titanosaurídeo Dinotitan</b>	Fm Adamantina	Marília	FUPNI04	osso	3,9456	0,53%
<b>Titanosaurídeo Brasilotitan</b>	Fm Adamantina	Presidente Prud	FUPNI06	osso	5,6695	0,03%
<b>Rocha associada ao Brasilotitan</b>	Fm Adamantina	Presidente Prud	FUPNI07	rocha	4,5553	0,11%
<b>Titanossaurídeo Aeolosaurus maximus</b>	Fm Adamantina	Monte alto	MPMA12-0001-97	osso	4,3545	0,15%
<b>Titanossaurídeo</b>	Fm Marília – Membro Echaporã	Marília	FUPNI08	Dente	3,368	0,50%
<b>Titanosaurídeo</b>	Fm Adamantina	Adamantina fêmur de grandes proposições	FUPPV0020	Osso	4,6446	2,11%
<b>Rocha associada a titanossauro</b>	Fm Adamantina	Adamantina	FUPPV0020	Rocha	2,3622	1,07%
<b>Titanosaurídeo</b>	Fm Adamantina	Gen.Salgado	FUPNI11	Osso	3,9193	1,84%
<b>Rocha associada a Titanosaurídeo</b>	Fm Adamantina	Gen. Salgado	FUPNI11b	Rocha	0,4086	1,00%
<b>Titanossauro ad02</b>	Fm Adamantina	Adamantina	FUPPV000030	Dente	3,7162	1,00%
<b>Titanosauridae ponto 1</b>	Fm Marília – Membro Serra da Galga	Peirópolis	FUPPV000026	Osso	3,9066	0,14%
<b>Titanosauridae em descrição</b>	Fm Uberaba	Uberaba	FUPPV000022	Osso	4,4482	1,81%
<b>Titanosauridae em descrição</b>	Fm Uberaba	Uberaba	FUPPV000022	Rocha	0	0,00%
<b>Titanosaurídeo</b>	Fm Marília – Membro Serra da Galga	Uberaba	FUPPV000028	Dente	2,9055	0,29%
<b>Titanossaurídeo Campestre</b>	Fm Marília-Membro Echaporã	Monte Alto	MPMA-08	osso púbis	5,3267	1,57%
<b>Titanossaurídeo Dinotitan caudal grande</b>	Fm Marília	Marília	FUPNI14	Osso	3,5056	0,41%



<b>Rocha associada ao Titanossaurídeo campestre</b>	Fm Marília – Membro Echaporã	Monte alto	FUPNI18	Rocha	0	0,00%
<b>Abelisauridae</b>	Fm Adamantina	Adamantina	FUPPV000032	Dente	14,1946	1,71%
<b>Theropoda</b>	Fm Adamantina	Adamantina	FUPPV000031	Dente	13,1643	1,65%
<b>Abelisauridae</b>	Fm Marília	Peirópolis	FUPPV000025	Dente	10,5591	6,24%
<b>Aves</b>	Fm Adamantina	Presidente Prud	FUPV000017	osso	5,7124	2,31%
<b>Aves</b>	Fm Adamantina	Presidente Prud	FUPV000017	rocha	0,9557	0,85%
<b>Casca de ovo Bauruoolithus</b>	Fm Adamantina	Jales	Ja03	Ovo	14,0937	4,66%
<b>Casca de ovo Bauruoolithus</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	Ja04	Ovo	11,3763	1,32%
<b>Casca ovo Bauruoolithus</b>	Fm Adamantina	Fernandópolis	Ja-04	Rocha	1,5111	0,00%
<b>Arenito km 153/BR050</b>	Fm Uberaba	Uberaba	FUPNI12	Arenito	0	0,00%
<b>Basalto</b>	Fm Serra Geral	Santa Rita de Passa Quatro (Base)	FUPNI15	Rocha	8,65378	3,56%
<b>Basalto</b>	Fm Serra Geral	Uberaba (topo do derrame)	FUPNI16	Rocha	9,7425	5,93%
<b>Rocha Uberaba</b>	Fm Uberaba	Uberaba	FUPNI17	Rocha	10,608	0,01%

#### 4.3.1. Resultados Estatísticos

Inicialmente os dados foram submetidos à análise de agrupamento de Cluster, que apresentou um bom ajuste, (correlação cofenética de 0,915) para a análise geral (Anexo 1) e 0,919 para análise restrita (figura 4.2). Os dados são considerados não paramétricos e a hipótese nula foi testada conforme o teste de Mann Whitney/Teste bilateral utilizando o software XLSTAT® (v19.5), sendo o P-valor calculado igual 0,240. Consequentemente, este resultado é maior que o nível de significância alfa: 0,05 e não se rejeita a hipótese nula. Considerou-se que independentemente do tipo amostral (i.e. osso ou dente), o mercúrio pode ser similarmente aprisionado e preservado nos táxons de Baurusuchidae, Sphagesauridae e Titanosauria.



**Figura 4.2** - Análise de Cluster realizada com os valores das matrizes de ossos e dentes dos táxons analisados. Apresenta dissimilaridade: método de ligação complexa por aglomeração e distância euclidiana, resultado da correlação cofenética: 0,919. Legenda. **Táxon:** SPH, Sphagesauridae; TIT, Titanosauridae; AVE, Aves; CAI, *Caipirasuchus*; TAR, Tartaruga; PIS, *Pissarachampsia*; MON, *Montealtosuchus*; LEP, Lepisosteidae; CHE, Chelonia; ITA, *Itasuchus*; MRL, *Mariliasuchus*; PEI, Peirosauridae, ADA, *Adamantinasuchus*; BAU, Baurusuchidae; ABE, Abelissauridae; APL, *Aplestosuchus*. **Formação geológica:** A, Adamantina, M, Marília, U, Uberaba. **Cidade:** GEN, General Salgado; PRE, Presidente Prudente; MON, Monte alto; GUR, Gurinhatã; CAT, Catanduva; MAR, Marília, UBE, Uberaba; ADM, Adamantina; PEI, Peirópolis, FER, Fernandópolis; JAL, Jales.

Os agrupamentos nos extremos do dendrograma representam os maiores valores de HgT nas matrizes (ossos e dentes) dos táxons analisados, sendo convergente e decrescente para o centro os menores valores registrados. Os grupos registrados no dendrograma são representativos para predadores de topo (Roxo e Amarelo), Consumidores intermediários (Azul) e Consumidores Primários (Vermelho e Verde). O pareamento dos valores medidos para HgT pela análise de agrupamento de cluster é muito bem ajustado à descrição morfológica e à decorrente classificação trófica destes espécimes conforme a literatura. Este panorama pode ser observado de forma mais pontual (análise restrita apenas com a matriz de dente dos diferentes táxons analisados) no Anexo 1.

#### **4.4.DISCUSSÃO**

O mercúrio é o único metal líquido à temperatura ambiente e existe principalmente nas formas molecular ou elementar ( $\text{Hg}^0$ ), inorgânica ( $\text{Hg}^{2+}$ ) e orgânica, como o metilmercúrio (MeHg) (Fitzgerald et al., 1998; Mason & Morel, 1995; Morel et al., 1998; Liu et al., 2012). O seu ciclo biogeoquímico está relacionado às emissões de  $\text{Hg}^0$  para atmosfera principalmente por atividade vulcânica e evaporação de corpos d'água (Morel et al., 1998; Selin, 2009), sendo neste ambiente oxidado em  $\text{Hg}^{2+}$ , precipitado em via úmida e depositado nos ecossistemas terrestres e aquáticos (Nriagu & Becker, 2003; Morel et al., 1998; Schoreder & Munthe, 1998). Nos sistemas aquáticos e sedimentos, uma fração do  $\text{Hg}^{2+}$  pode ser metilada por microrganismos sulfato redutores na forma biodisponível metilmercúrio (MeHg) (Shaefer et al., 2015; Ullrich et al., 2001; Bergquist & Blum, 2007), composto orgânico que possui alta capacidade de bioacumulação em organismos (Compeau & Bartha, 1985; WHO, 1990, Mason & Morel, 1995; Chen & Wilson, 1997; Clarkson, 1997; Morel et al., 1998; Wastras 1998; Ekstrom et al., 2003; Fleming et al., 2006).

Estudos recentes (Thibodeau et al., 2016; Percival et al., 2017; Font et al., 2016; Jones et al., 2017) investigam em sedimentos pretéritos de LIPs (*Large Igneous Province*) do Triássico e Cretáceo a perturbação do ciclo global do Hg por intensa atividade vulcânica e a relação com eventos de extinção em massa.

De forma correlata, Cardia et al. (2018) evidenciaram em fósseis de crocodiliformes do cretáceo brasileiro a exposição destes animais ao Hg, sugerindo a susceptibilidade da biota pretérita às alterações globais do ciclo de Hg e a natural

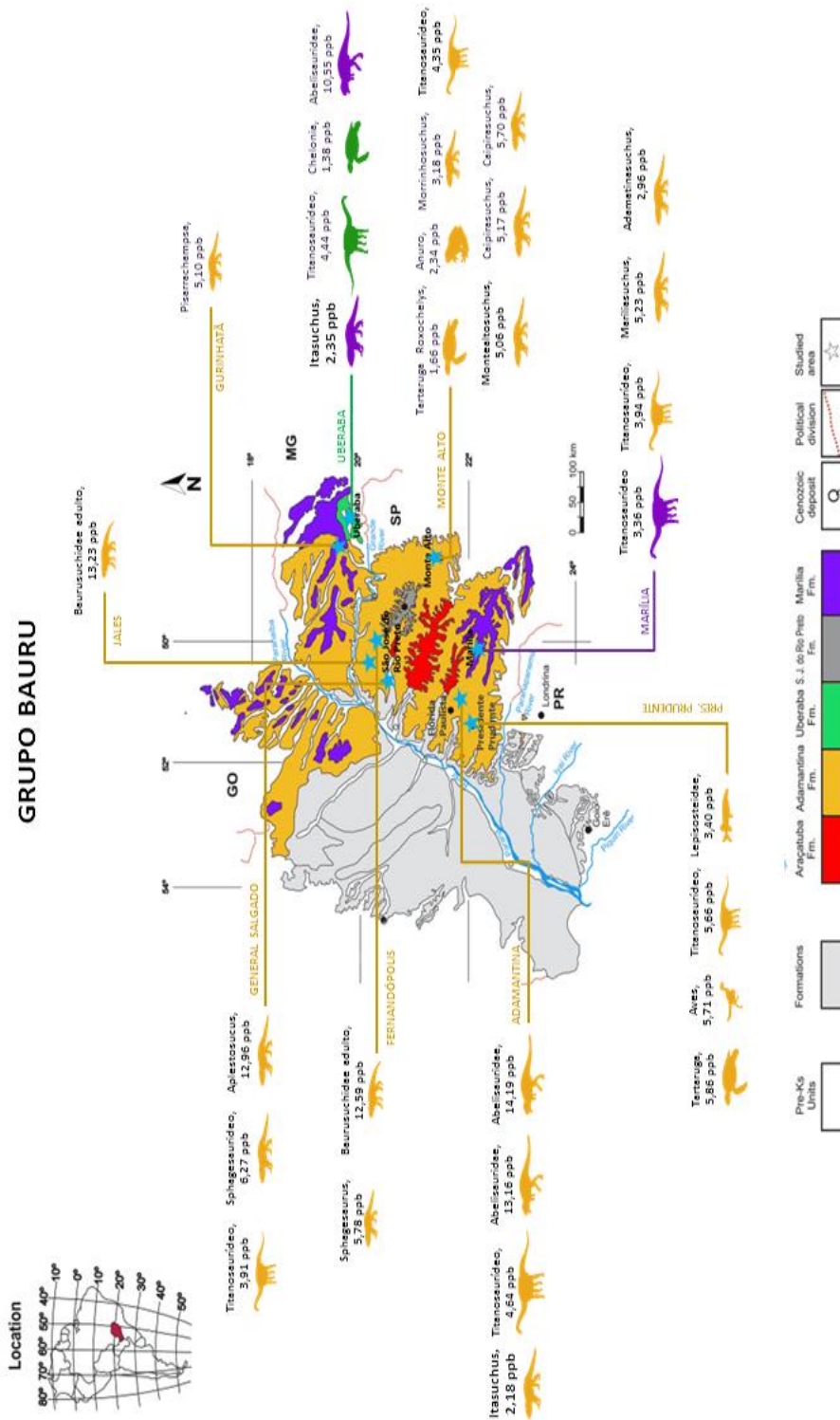
acumulação deste elemento ao longo da vida destes animais. Os autores reportaram uma diferença de ~30% mais Hg nos tecidos ósseos de indivíduos adultos em relação ao juvenil de *Baurusuchidae* analisados (Tabela 4.1).

Os resultados aqui apresentados descrevem a bioacumulação (Atwel et al., 1998; Rainwater et al., 2002; Bergeron et al., 2010; Lazaro et al., 2015; du Preez et al., 2018) na diferença dos valores de Hg medido nos tecidos biomineralizados (e.g. osso e placa dérmica) dos fósseis de Crocodyliformes notossúquios da Formação Adamantina (Tabela 4.1), sugerindo a existência de uma acumulação contínua de Hg diretamente relacionado à atividade trófica dos espécimes analisados, conforme a diferença dos valores apresentados entre indivíduos jovens e adultos de crocodyliformes.

O comportamento alimentar dos fósseis de vertebrados do Grupo Bauru é essencialmente inferido por descrição morfológica para os táxons estudados (Bertini et al., 1993; Kellner e Azevedo, 1999; Powell, 2003; Pol, 2003; Carvalho, 2004; & Nobre, 2005; Candeiro, 2006; Andrade e Bertini, 2008; Nascimento e Zaher, 2011, Sautucci e Arruda-Campos, 2011, Tavares et al., 2014) sendo ressaltadas, por exemplo, características anatômicas para carnivorismo em dinossauros terópodes (*Abelisauridae*) e crocodyliformes (*Baurusuchidae*), herbivorismo em dinossauros saurópodes (*Titanosauridae*) e onivorismo e/ou herbivorismo para Crocodyliformes (*Sphagesauridae*). Apesar de atuar como bom indício e direcionamento para a classificação destes animais em possíveis níveis de uma cadeia trófica, a descrição morfológica, salvo raras exceções, fornece evidências insuficientes para retratar relações ecológicas interespecíficas como predação e até mesmo discriminar o predador dominante em paleoecossistemas.

Os valores de Hg que determinamos em 30 diferentes táxons de vertebrados das diferentes formações geológicas nas regiões de Adamantina, Monte Alto, Marília e Uberaba possibilitaram posicionar quantitativamente *Abelisaurídeos* (terópodes) e *baurusuquídeos* (*Crocodylomorpha*) como predadores topo de cadeia, com média aproximada entre 14 a 10  $\text{ng.g}^{-1}$  em seus tecidos biomineralizados. Na sequência estão os *peirosaurídeos* (*Crocodylomorpha*) com média de 9,0  $\text{ng.g}^{-1}$ , *sphagesaurídeos* (*Crocodylomorpha*) e aves com média entre 6,0 e 5,0  $\text{ng.g}^{-1}$ , são determinados como consumidores intermediários e sugeridos dentro de uma faixa de transição entre comportamento carnívoro para onívoro. Outros *Crocodylomorpha* como *Morrinhosuchus* e *Mariliasuchus*, além de peixes e *Roxochelys* (tartaruga) apresentaram valores baixos, entre 5,0 e 2,0  $\text{ng.g}^{-1}$  e foram alocados na faixa correspondente entre

onivoria e herbivoria. Os titanosaurídeos, apesar do gigantismo e elevada biomassa (Powell, 2003; Upchurch et al., 2004; Salgado & Carvalho, 2008; Novas, 2009) apresentaram valores médios entre 4,0 e 2,0 ng.g<sup>-1</sup> e são considerados herbívoros e consumidores primários (Figura 4.3).



**Figura 4.3** - Concentração de Hg nos principais táxons de vertebrados fósseis encontrados nas formações Adamantina, Uberaba, Marília do Grupo Bauru. As cores das silhuetas indicam a unidade geológica em que o táxon foi encontrado.

A diferença entre a concentração de Hg para os fósseis de crocodyliformes e titanosaurídeos aqui analisados, pode ser melhor entendida conforme o trabalho de Almlí et al. (2005) que ao investigar elementos traços para crocodilos atuais (i.e. *Crocodylus niloticus*) em dois diferentes rios na Namíbia, consideram nestes animais concentrações de Hg expressivamente maiores do que as registradas para hipopótamos (herbívoros) dos mesmos rios, que possuem até 3 vezes a massa corpórea dos crocodilos. Os autores concluem que os maiores valores encontrados nos crocodilos são resultado da biomagnificação de Hg na cadeia alimentar que, conseqüentemente, estes animais ocupam o maior nível trófico. A biomagnificação de mercúrio em nível trófico é evidenciada por vários trabalhos (Lavoie et al., 2013; Riget et al., 2007; Rainwalter et al., 2002; Bargagli et al., 1998; Riisgard & Hansen 1990; Futter 1994; Dietz et al., 1990) os quais concluem uma relação direta entre a concentração de Hg verificada nos espécimes analisados com a disponibilidade ambiental deste elemento.

Os diferentes valores de concentração de Hg verificados nos fósseis de crocodiliformes do Grupo Bauru somam-se à alta variabilidade morfológica destes animais como forte evidência para a diversidade de hábitos alimentares, culminando, conseqüentemente, com o posicionamento dos espécimes em diferentes níveis tróficos.

Nesse aspecto, a quantificação de Hg em tecidos biomineralizados não apenas fornece uma evidência mensurável para nivelar troficamente espécies atuais e pretéritas, mas principalmente pode ser descrita como um valioso registro da história de vida, ambientes e dietas individuais de alimentos assimilados ao longo da vida animal (Aubail et al., 2012; Atwel et al., 1998).

Por fim, para o material descrito por Godoy et al. (2014), uma rara evidência direta de predação entre crocodiliformes do Grupo Bauru, com um Sphagesauridae contido na cavidade abdominal de um Baurusuchidae (*Aplestosuchus*), os resultados apontam para 51,7% mais Hg no predador (Baurusuchidae) em relação à sua presa (Sphagesauridae). Indubitavelmente, estes dados representam uma das mais fortes evidências para biomagnificação trófica. Nesse aspecto, as análises de isótopos estáveis realizadas em dentes de baurusuquídeos reportaram valores para  $\delta^{13}\text{C}$  de -2,04 e -4,04‰ (Vide Anexo 6). Esses resultados estão em conformidade com os trabalhos de Lee Thorp et al (1989), Cerling et al. (1997), Cerling & Harris (1999), MacFaden et al (1999) que consideraram valores próximos de -6‰ para carnívoros comedores de

herbívoros ou itens marítimos, podendo ser relacionados a uma preferência alimentar oportuna em que bauruquíeos tem como ítem trófico animais herbívoros e ou onívoros.

Rasmussen et al (2013), investigando a causa-mortis em esqueletos medievais dinamarqueses, evidenciaram e discutiram a capacidade de acumulação e aprisionamento mercúrio por longos períodos de tempo em tecidos ósseos. De forma análoga à metodologia apresentada por estes autores, aqui determinamos e comparamos o Hg total em tecidos biomineralizados com sedimentos circundantes, com o intuito de obter um indicativo da contaminação ou perda ocorrida durante a diagênese nos fósseis. Nesse contexto, Garcia-Alíx et al. (2013) reportam a presença de Hg em fósseis de mamíferos e relacionam esse fenômeno a porosidade dos ossos, uma vez que os valores para essa matriz são superiores aos da dentina e ausente no esmalte dentário, estruturas biomineralizadas que apresentam pouca ou nenhuma porosidade. Entretanto, os resultados aqui apresentados descrevem valores muito semelhantes de Hg para dentes e ossos, exceto para osteodermos, que são menos enriquecidos nesse elemento (tabela 4.1). Portanto, diferentemente da proposta de Garcia-Alix et al. (2013), nos materiais fósseis aqui analisados é evidenciado exatamente o oposto do que se esperaria se fossem enriquecidos por Hg durante a diagênese, uma vez que os osteodermos são estruturas biomineralizadas com mais espaços porosos do que ossos longos, porém, com menores valores de HgT. Isto suporta fortemente que a presença de Hg nas amostras fósseis aqui estudadas é o resultado da incorporação de Hg ao longo de suas vidas.

O aprisionamento de elementos traços e a alteração química pós deposicional em tecidos fósseis, inclusive por procedimentos analíticos são assuntos bastante discutidos e não consensuais entre autores (e.g. Keenam e Engel, 2017; Kocsis et al., 2011; Peterson et al., 2010; Pucéat & Lécuyer et al., 2004; Trueman, et al., 2000; Hoppe et al., 2003., Sanchez-Chillon et al., 1994; Kolodony et al.,1996; Price et al.,1992) prevalecendo o esmalte dentário como a matriz com estrutura molecular mais fechada e menos sujeita a alterações diagenéticas.

Entretanto, assim como Cardia et al. (2018), que determinaram Hg total em ossos e dentes de Baurusuchidae (Crocodylomorpha), verificamos aqui também o Hg total em ossos e dentes de titanossaurídeos (saurópodes) e constatamos uma diferença de menos de 1% do valor de Hg nessas matrizes, indicando a ocorrência de aprisionamento e preservação similar deste metal pesado nos fósseis, independentemente da formação geológica em que foram coletados. Estes dados são assegurados pelo teste estatístico de agrupamento de Cluster que, além de classificar os

espécimes estudados em grupos, conforme a quantidade de Hg mensurada, pode ser entendido como indício da não contaminação diagenética.

Os tecidos biomineralizados de ossos e dentes (esmalte e dentina) são compostos por uma parte mineralizada, a hidroxioapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) e por uma parte orgânica, o colágeno (Trueman e Tuross, 2002; Mays, 1998; Koch, et al., 2007; Lee-Thorp & van Der Merwe, 1991, Ambrose, 1993). Esta diferenciação tecidual pode estar relacionada à forma aprisionamento do Hg nos fósseis e até mesmo com a susceptibilidade desses materiais a alterações diagenéticas (Cardia et al., 2018). Sabe-se que cristalitos ósseos apresentam alta capacidade de adsorção para alguns metais traços (Kocsis et al., 2010; Kolodony et al., 1996) e que, devido a sua carga elétrica, o  $\text{Hg}^{2+}$  pode substituir o cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) na hidroxioapatita por sorção (Camargo, 2013; Souza, 2015; Zhu et al. 2006; Koutsoukos, 1998). No entanto, infere-se na parte orgânica, a formação de HgS como resultado da especiação química do mercúrio por fatores biológicos, onde após a morte do animal, microrganismos quebram cadeias ligações de carbono de aminoácidos em busca de energia (Clarckson et al, 1997; Skyllberg, 2010) e precipitam o HgS. Em síntese, a fossilização do osso está para um processo de hidrólise da matriz colágena e crescimento da apatita autigênica na porosidade intra-cristalina. (Kocsis et al., 2010; Trueman et al., 2008; Collins et al., 1995).

A alta afinidade do Hg com S explica a forte ligação do Hg à matéria orgânica e à estabilidade do HgS (sulfeto de mercúrio (II)) (Schuster, 1991). O sulfeto de mercúrio (II) é um componente importante do ciclo do mercúrio, sendo o cinábrio (HgS) o principal mineral deste elemento (Holley et al., 2007; Rytuba, 2003) e que na temperatura de 298K e pressão de 1 atm é o composto estável no sistema Hg-S (Paquette & Helz, 2007; Skyllberg, 2010). Considerando que amostras litológicas e fósseis são resistentes à ação do tempo, é exigido um maior cuidado durante a preparação das amostras, o que foi satisfeito assim como em outros estudos (Fonte et al., 2016; Percival et al., 2017; Cardia et al., 2018) que também utilizaram o analisador Zeeman portátil Ra 915+ da Ohio Lumex, cuja ação analítica é baseada na decomposição térmica, não sendo necessário tratamento químico e conseqüentemente diminuído os riscos de alteração dos resultados. Nesse sentido, análises de isótopos de S nos mesmos materiais aqui estudados mostraram que esse elemento não ocorre em quantidades detectáveis pelos equipamentos utilizados (i.e. Espectrômetro de Massa Plasma Neptune MC-ICP-MS e Espectrômetro Renishaw in via micro-RAMAN). Dessa forma, infere-se que a quantidade de S nas amostras é muito baixa e que a quantidade de



S ligado ao Hg, formando cinábrio, deve ser muito menor ainda. Tal fato sugere que o Hg presente nos tecidos analisados devem ser provenientes da substituição do Ca pelo Hg na estrutura da hidroxiapatita.

O Hg determinado em diferentes concentrações nos vertebrados fósseis e sedimentos aqui analisados refletem a disponibilidade deste metal nos ecossistemas cretáceos do Grupo Bauru e a capacidade de acumulação dos organismos que habitavam os ambientes representados pelas formações Adamantina, Uberaba e Marília. Nesse aspecto, a evidente bioacumulação e biomagnificação trófica de Hg nos táxons analisados, podem ser entendidas como etapas do ciclo biogeoquímico deste elemento.

#### 4.5. CONCLUSÃO

Os valores de mercúrio total (HgT) determinados nos tecidos biomineralizados dos táxons analisados foram interpretados como evidência direta para os fenômenos de bioacumulação e biomagnificação trófica nos paleoambientes que estes animais habitavam. Nesse aspecto, a diferença registrada nas concentrações entre os espécimes jovens e adultos para *Baurusuchus*, *Pisarrachamps* e *Caipirasuchus*, sugere o acúmulo contínuo de Hg ao longo da vida destes crocodyliformes, com até 30% mais Hg no indivíduo adulto de Baurusuquídeo em relação ao seu juvenil. As medições de HgT realizadas em fósseis fornecem importantes informações sobre a disponibilidade deste elemento nos paleoecossistemas cretáceos e as implicações para a biota associada.

Já as análises realizadas na evidência direta de predação entre crocodylomorfos, apontam para 51,7% mais Hg no predador (*Aplestosuchus*) em relação à presa (Sphagosauridae) identificada em sua cavidade abdominal, tratando-se de um excepcional registro para o fenômeno de biomagnificação trófica. A razão isotópica  $\delta^{13}\text{C}$  (-2,04 e -4,04 ‰) para Baurusuchidae indica que esses predadores se alimentavam de animais herbívoros e/ou onívoros

A diferença nos valores medidos nos espécimes analisados permitiu posicioná-los em níveis tróficos: os crocodyliformes do gênero *Baurusuchus*, assim como os dinossauros terópodes da família Abelisauridae, compõem os táxons que apresentaram a maior concentração em seus tecidos biomineralizados, com valores entre 10 e 14 ng.g<sup>-1</sup> de Hg e são considerados como predadores de topo de cadeia, ocupando o nível trófico mais alto do ecossistema do Grupo Bauru. Diferentemente, dinossauros saurópodes Titanosauriformes, tiveram em seus ossos e dentes um registro médio de 4,0 ng.g<sup>-1</sup> de

Hg, 73,3% menos mercúrio do que os predadores de topo aqui citados, o que está de acordo com a sua anatomia descrita como grande herbívoro e consumidor primário. Além disso, esse valor parece não depender da concentração de Hg presente na rocha.

Os consumidores intermediários são sequencialmente representados por um crocodiliforme Peirosauridae, com média de  $9,15 \text{ ng.g}^{-1}$  de Hg, Sphagessauridae, *Montealtosuchus* (Peirosauridae), aves e tartarugas com valores entre  $\sim 6,0$  e  $4,0 \text{ ng.g}^{-1}$  de Hg, sendo o comportamento alimentar para estes táxons classificado em uma faixa de transição entre carnívora e herbívora. Ainda, a diferença de valores verificada nos crocodyliformes analisados pode ser relacionada a especializações alimentares em insetivoria, piscivoria e necrofagia, e que futuramente poderão ser mais detalhados através da conjugação de dados geoquímicos, morfológicos e icnofósseis (coprólitos).

Os valores medidos nos Sphagessauridae (entre  $6,27$  e  $4,64 \text{ ng.g}^{-1}$  de Hg) somados à morfologia de crânio, mandíbula e dentes, os quais apresentam, heterodontia acentuada, facetas de desgaste, ranhuras evidentes e na horizontal, suportam um comportamento onívoro, com a inclusão de vegetal na dieta.

Outros espécimes de crocodiliformes como *Mariliasuchus*, *Adamantinasucus*, *Morrinhosuchus* e *Itasuchus*, além de peixes Lepisosteiformes e a tartaruga *Roxochelys* apresentaram valores mais baixos, entre  $\sim 5,0$  e  $2,0 \text{ ng.g}^{-1}$  de Hg e foram agrupados na faixa correspondente para o comportamento onívoro e herbívoro. Ressalta-se que os valores para os *Itasuchus* são baixos e uniformemente iguais, com aproximados  $2,0 \text{ ng.g}^{-1}$  de Hg, independentemente da formação geológica em que foram encontrados, o que reforça para uma especialização alimentar. A diferença da quantidade de Hg nos crocodyliformes analisados, somada à sua variabilidade morfológica, são indícios para a diversidade de comportamentos alimentares.

Consideramos que a quantificação de mercúrio total em fósseis é um interessante recurso metodológico ao fornecer informações quantificáveis e rastreáveis para a reconstrução de eventos pretéritos como relações ecológicas interespecíficas e comportamento alimentar.

#### 4.6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almli, B., Mwase, M., Sivertsen, T., M. Musonda, M., Flåøyen, A., 2005. Hepatic and renal concentrations of 10 trace elements in crocodiles (*Crocodylus niloticus*) in the Kafue and Luangwa rivers in Zambia. *Sci. Total Environ.* <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.06.019>
- Alvarenga, H., Nava, W.R., 200AD. Aves Enantiornithes do Cretáceo Superior da Formação Adamantina do Estado de São Paulo, Brasil, in: II Congresso Latino Americano de Paleontologia de Vertebrados.
- Ambrose, S.H., Norr, L., 1993. Experimental Evidence for the Relationship of the Carbon Isotope Ratios of Whole Diet and Dietary Protein to Those of Bone Collagen and Carbonate, in: *Prehistoric Human Bone: Archaeology at the Molecular Level.* <https://doi.org/10.1007/978-3-662-02894-0>
- Amiot, R., Wang, X., Zhou, Z., Wang, X., Lécuyer, C., Buffetaut, E., Fluteau, F., Ding, Z., Kusuhashi, N., Mo, J., Philippe, M., Suteethorn, V., Wang, Y., Xu, X., 2015. Environment and ecology of East Asian dinosaurs during the Early Cretaceous inferred from stable oxygen and carbon isotopes in apatite. *J. Asian Earth Sci.* <https://doi.org/10.1016/j.jseaes.2014.11.032>
- Andrade, M.B., Bertini, R.J., 2008. A new *Sphagesaurus* (Mesoeucrocodylia: Notosuchia) from the Upper Cretaceous of Monte Alto City (Bauru Group, Brazil), and a revision of the Sphagesauridae. *Hist. Biol.* doi:10.1080/08912960701642949
- Atwell, L., Hobson, K. a, Welch, H.E., 1998. Biomagnification and bioaccumulation of mercury in an arctic marine food web: Insights from stable nitrogen isotope analysis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* doi:10.1139/cjfas-55-5-1114
- Aubail, A., Dietz, R., Rigét, F., Sonne, C., Wiig, Ø., Caurant, F., 2012. Temporal trend of mercury in polar bears (*Ursus maritimus*) from Svalbard using teeth as a biomonitoring tissue. *J. Environ. Monit.* doi:10.1039/C1EM10681C
- Azevedo, Karine Lohmann. "Aspectos tafonômicos de vertebrados da parte oriental do Grupo Bauru, Cretáceo Superior." (2013).
- Baez, A.M., Peri, S., 1989. *Baurubatrachus pricei*, nov. gen. et sp., un anuro del Cretacico Superior de Minas Gerais, Brasil. *An. Acad. Bras. Cienc.* 61, 447–458.
- Báez, A.M., Gómez, R.O., Ribeiro, L.C.B., Martinelli, A.G., Teixeira, V.P.A., Ferraz, M.L.F., 2012. The diverse Cretaceous neobatrachian fauna of South America:

- Uberabatrachus carvalhoi*, a new frog from the Maastrichtian Marília Formation, Minas Gerais, Brazil. *Gondwana Research* 22, 1141e1150
- Bargagli, R., Monaci, F., Sanchez-Hernandez, J.C., Cateni, D., 1998. Biomagnification of mercury in an Antarctic marine coastal food web. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 169, 65–76. doi:10.3354/meps169065
- Batezelli, A., Saad, A.R., Etchebehere, M.L.C., Perinotto, J.A.J., Fulfaro, V.J., 2003. Análise estatigráfica aplicada a formação Araçatuba (Grupo Bauru – KS) no Centro-Oeste de São Paulo. *Geociências UNESP* 22, 5–19.
- Bertini, R.J., Marshall, L.G., Gayet, M., Brito, P.M., 1993. Vertebrate faunas from the Adamantina and Marília (Upper Bauru Group, Late Cretaceous, Brazil) in their stratigraphic and paleobiogeographic context. *Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie, Monatshefte* 188, 71e101
- Bergeron, C.M., Bodinof, C.M., Unrine, J.M., Hopkins, W.A., 2010. Bioaccumulation and maternal transfer of mercury and selenium in amphibians. *Environ. Toxicol. Chem.* 29, 989–997. doi:10.1002/etc.125.
- Bittencourt, J.S., Langer, M.C., 2011. Mesozoic dinosaurs from Brazil and their Biogeographic implications. *An. Acad. Bras. Cienc.* 83, 23–60. doi:10.1590/S0001-37652011000100003
- Blum, J.D., Bergquist, B.A., 2007. Reporting of variations in the natural isotopic composition of mercury, in: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1236-9>
- Boudou, A. and Ribeyre, F. 1995. Mercury in the food web: accumulation and transfer mechanisms. In *Metal ions in biological systems*. Edited by A. Sigel and H. Sigel. Marcel Dekker, Inc., New York. pp. 289–31
- Cabana, G., Tremblay, A., Kalff, J., Rasmussen, J.B., 1994. Pelagic food chain structure in Ontario lakes: a determinant of mercury levels in lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* doi:10.1139/f94-039
- Campbell, L.M., Norstrom, R.J., Hobson, K.A., Muir, D.C.G., Backus, S., Fisk, A.T., 2005. Mercury and other trace elements in a pelagic Arctic marine food web (Northwater Polynya, Baffin Bay). *Sci. Total Environ.* 351–352, 247–263. doi:10.1016/j.scitotenv.2005.02.043
- Camargo, C. L. M., 2013. Modelagem do processo de sorção de mercúrio proveniente de correntes gasosas em hidroxioapatitas modificadas com sulfeto de cobre. (Doctoral dissertation, Universidade Federal do Rio de Janeiro).

- Candeiro, C.R.A., Martinelli, A.G., Avilla, L.S., Rich, T.H., 2006. Tetrapods from the Upper Cretaceous (Turonian-Maastrichtian) Bauru Group of Brazil: a reappraisal. *Cretac. Res.* 27, 923–946. doi:10.1016/j.cretres.2006.05.002
- Cardia, F. M. S., Santucci, R. M., Bernardi, J. V. E., de Andrade, M. B., & de Oliveira, C. E. M., 2018. Mercury concentrations in terrestrial fossil vertebrates from the Bauru Group (Upper Cretaceous), Brazil and implications for vertebrate paleontology. *Journal of South American Earth Sciences*.
- Carvalho, I.D.S., Carlos, L., Ribeiro, B., 2004. *Uberabasuchus terrificus* sp. nov. *Gondwana Res.* 7, 975–1002. doi:10.1016/S1342-937X(05)71079-0
- Carvalho, I. de S., Arruda Campos, A. de C., Henrique Nobre, P., 2005. *Baurusuchus salgadoensis*, a New Crocodylomorpha from the Bauru Basin (Cretaceous), Brazil. *Gondwana Res.* 8, 11–30. doi:10.1016/S1342-937X(05)70259-8
- Cerling, T.E., Harris, J.M., Macfadden, B.J., Leakey, M.G., Quadek, J., Eisenmann, V., Ehleringer, J.R., 1997. Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature* 389, 153–158.
- Cerling, T.E., Harris, J.M., 1999. Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia* 120, 347–363. doi:10.1007/s004420050868
- Chen, S., Wilson, D.B., 1997. Genetic engineering of bacteria and their potential for Hg<sup>2+</sup> bioremediation. *Biodegradation* 8, 97–103.
- Chillón, B.S., Alberdi, M.T., Leone, G., Bonadonna, F.P., Stenni, B., Longinelli, A., 1994. Oxygen isotopic composition of fossil equid tooth and bone phosphate: an archive of difficult interpretation. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* [https://doi.org/10.1016/0031-0182\(94\)90103-1](https://doi.org/10.1016/0031-0182(94)90103-1)
- Choi, S.C., Chase, T., Bartha, R., 1994. Metabolic pathways leading to mercury methylation in *Desulfovibrio desulfuricans* LS. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 4072–4077.
- Clarkson, T. W., 1997. The toxicology of mercury. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 34(4), 369-403.
- Clarkson, T.W., Magos, L., 2006. The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* doi:10.1080/10408440600845619

- Collins, M.J., Riley, M.S., Child, A.M., Turner-Walker, G., 1995. A Basic Mathematical Simulation of the Chemical Degradation of Ancient Collagen. *J. Archaeol. Sci.* 22, 175–183. doi:10.1006/jasc.1995.0019
- Compeau, G.C., Bartha, R., 1985. Sulfate-reducing bacteria: Principal methylators of mercury in anoxic estuarine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* doi:0 0 9 9 - 2 2 4 0 / 8 5 / 0 8 0 4 9 8 - 0 5 \$ 0 2 . 0 0 / 0
- Dias-Brito, D., Musacchio, E.A., Castro, J.C., Maranhiao, M.S.A.S., Suárez, J.M., Rodrigues, R., 2001. Grupo Bauru: Uma unidade continental do Cretáceo no Brasil - Concepções baseadas em dados micropaleontológicos, isotópicos e estratigráficos. *Rev. Paleobiol.* 20, 245–304.
- Dietz, R., Nielsen, C.O., Hansen, M.M., Hansen, C.T., 1990. Organic mercury in Greenland birds and mammals. *Sci. Total Environ.* 95, 41–51. doi:10.1016/0048-9697(90)90051-U
- du Preez, M., Govender, D., Kylin, H., Bouwman, H., 2018. Metallic elements in Nile Crocodile eggs from the Kruger National Park, South Africa. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 148. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.11.032
- Ekstrom, E.B., Morel, F.M.M., Benoit, J.M., 2003. Mercury methylation independent of the acetyl-coenzyme a pathway in sulfate-reducing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* <https://doi.org/10.1128/AEM.69.9.5414-5422.2003>
- Estes, R., Price, L.I., 1973. Iguanid lizard from the upper cretaceous of Brazil. *Science* (80-. ). 180, 748–751. doi:10.1126/science.180.4087.748
- Eurachem, 1998. *The Fitness for Purpose of Analytical Methods, Eurachem Guide*, ISBN: 0-94948926-12-0. doi:978-91-87461-59-0
- Fernandes, L.A., Coimbra, A.M., 1996. A Bacia Bauru (Cretáceo Superior, Brasil). *An. Acad. Bras. Cienc.* 68, 194–205.
- Fernandes, L.A., SP., 1998. Estratigrafia e evolução geológica da parte oriental da Bacia Bauru (Ks, Brasil). Tese (Doutorado em Geociências) - Programa de Pós-Graduação em Geologia Sedimentar, Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo. 216 p.
- Fernandes, L.A., Coimbra, A.M., 2000. Revisão estratigráfica da parte oriental da bacia Bauru (Neocretáceo). *Rev. Bras. Geociências* 30, 717–728.
- Fitzgerald WF, Lamborg CH, Heinrich DH, Karl KT. *Geochemistry of mercury in the environment. Treatise on geochemistry.* Oxford: Pergamon; 2007b. p 1–47.

- Fitzgerald, W.F., Lamborg, C.H., 2013. Geochemistry of Mercury in the Environment, in: *Treatise on Geochemistry: Second Edition*. pp. 91–129. doi:10.1016/B978-0-08-095975-7.00904-9
- Fleming, E.J., Mack, E.E., Green, P.G., Nelson, D.C., 2006. Mercury methylation from unexpected sources: Molybdate-inhibited freshwater sediments and an iron-reducing bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 457–464. doi:10.1128/AEM.72.1.457-464.2006
- Font, E., Adatte, T., Sial, A.N., de Lacerda, L.D., Keller, G., Punekar, J., 2016. Mercury anomaly, deccan volcanism, and the end-cretaceous mass extinction. *Geology* 44, 171–174. doi:10.1130/G37451.1
- Fulfaro, V.J. & Perinoto, J.A. de J., Águas de São Pedro., 1996. A Bacia Bauru: estado da Arte. In: *SIMPÓSIO SOBRE O CRETÁCEO DO BRASIL, 4*, Boletim. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista. 297-303.
- Futter, M.N., 1994. Pelagic food-web structure influences probability of mercury contamination in lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Sci. Total Environ.* 145, 7–12.
- Geroto, C.F.C. & Bertini, R.J., 2014. New records of fóssil vertebrate from the upper cretaceous Adamantina formation (Bauru Group) southeastern Brazil. *Revista do Instituto Geológico, São Paulo*, 35 (2), 39-56.
- Godoy, P.L., Montefeltro, F.C., Norell, M.A., Langer, M.C., 2014. An additional Baurusuchid from the cretaceous of Brazil with evidence of interspecific predation among crocodyliformes. *PLoS One* 9. doi:10.1371/journal.pone.0097138
- Goldberg, K., Garcia, A.J.V., 2000. Palaeobiogeography of the Bauru Group, a dinosaur-bearing Cretaceous unit, northeastern Parana Basin, Brazil. *Cretac. Res.* 21, 241–254. doi:10.1006/cres.2000.0207
- Hilderbrand, G. V., Farley, S.D., Robbins, C.T., Hanley, T.A., Titus, K., Servheen, C., 1996. Use of stable isotopes to determine diets of living and extinct bears. *Can. J. Zool.* 74, 2080–2088. doi:10.1139/z96-236
- Hillson, S., 1996. *Dental Anthropology*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Holley, E.A., James McQuillan, A., Craw, D., Kim, J.P., Sander, S.G., 2007. Mercury mobilization by oxidative dissolution of cinnabar (HgS) and metacinnabar (HgS). *Chem. Geol.* 240, 313–325. doi:10.1016/j.chemgeo.2007.03.001

- Hobson, K. a, Welch, H.E., 1992. Determination of trophic relationships within a high Arctic marine food web using delta-13 C and delta-15 N analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 84, 9–18. doi:10.3354/meps084009
- Hoppe, K.A., Koch, P.L., Furutani, T.T., 2003. Assessing the preservation of biogenic strontium in fossil bones and tooth enamel. *Int. J. Osteoarchaeol.* 13, 20–28. doi:10.1002/oa.663
- Hussey, N.E., Macneil, M.A., Mcmeans, B.C., Olin, J.A., Dudley, S.F.J., Cliff, G., Wintner, S.P., Fennessy, S.T., Fisk, A.T., 2014. Rescaling the trophic structure of marine food webs. *Ecol. Lett.* 17, 239–250. doi:10.1111/ele.12226
- ISO/IEC, 1999. General requirements for the competence of calibration and testing laboratories. 17025.
- Iori, F. V., Carvalho, I.S., 2011. *Caipirasuchus paulistanus*, a new sphagesaurid (Crocodylomorpha, Mesoeucrocodylia) from the Adamantina Formation (Upper Cretaceous, Turonian-Santonian), Bauru Basin, Brazil. *J. Vertebr. Paleontol.* 31, 1255–1264. doi:10.1080/02724634.2011.602777
- Keenan, S.W., Engel, A.S., 2017. Early diagenesis and recrystallization of bone. *Geochim. Cosmochim. Acta* 196, 209–223. doi:10.1016/j.gca.2016.09.033
- Kellner, A.W.A., Azevedo, S.A.K., 1999. A new sauropod dinosaur (Titanosauria) from the Late Cretaceous of Brazil. *Natural Science Museum Monographies* 15, 111–142.
- Kocsis, L., Trueman, C.N., Palmer, M.R., 2010. Protracted diagenetic alteration of REE contents in fossil bioapatites: Direct evidence from Lu-Hf isotope systematics. *Geochim. Cosmochim. Acta* 74, 6077–6092. doi:10.1016/j.gca.2010.08.007
- Koch, P.L., Tuross, N., Fogel, M.L., 1997. The Effects of Sample Treatment and Diagenesis on the Isotopic Integrity of Carbonate in Biogenic Hydroxylapatite. *J. Archaeol. Sci.* 24, 417–429. doi:10.1006/jasc.1996.0126
- Kolodny, Y., Luz, B., Sander, M., Clemens, W.A., 1996. Dinosaur bones: Fossils or pseudomorphs? The pitfalls of physiology reconstruction from apatitic fossils. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 126, 161–171. doi:10.1016/S0031-0182(96)00112-5
- Koutsoukos, P. G. (1998). Influence of metal ions on the crystal growth of calcium phosphates. In *Calcium Phosphates in Biological and Industrial Systems* (pp. 145-171). Springer US.



- Layman, C.A., Araujo, M.S., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C.M., Harrison, E., Jud, Z.R., Matich, P., Rosenblatt, A.E., Vaudo, J.J., Yeager, L.A., Post, D.M., Bearhop, S., 2012. Applying stable isotopes to examine food-web structure: An overview of analytical tools. *Biol. Rev.* doi:10.1111/j.1469-185X.2011.00208.x
- Lavoie, R.A., Jardine, T.D., Chumchal, M.M., Kidd, K.A., Campbell, L.M., 2013. Biomagnification of mercury in aquatic food webs: A worldwide meta-analysis. *Environ. Sci. Technol.* 47, 13385–13394. doi:10.1021/es403103t
- Lázaro, W.L., de Oliveira, R.F., dos Santos-Filho, M., da Silva, C.J., Malm, O., Ignácio, Á.R.A., Díez, S., 2015. Non-lethal sampling for mercury evaluation in crocodylians. *Chemosphere* 138, 25–32. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.05.007
- Lécuyer, C., Bogey, C., Garcia, J.P., Grandjean, P., Barrat, J.A., Floquet, M., Bardet, N., Pereda-Superbiola, X., 2003. Stable isotope composition and rare earth element content of vertebrate remains from the Late Cretaceous of northern Spain (Laño): Did the environmental record survive? *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 193, 457–471. doi:10.1016/S0031-0182(03)00261-X
- Lee-Thorp, J.A., Sealy, J.C., van der Merwe, N.J., 1989. Stable carbon isotope ratio differences between bone collagen and bone apatite, and their relationship to diet. *J. Archaeol. Sci.* 16, 585–599. doi:10.1016/0305-4403(89)90024-1
- Lima, M.R.D., Mezzalana, S., Dino, R., Saad, A.R., 1986. Descoberta de microflora em sedimentos do Grupo Bauru, Cretáceo do Estado de São Paulo. *Rev. do Inst. Geológico* 7, 5–9. doi:10.5935/0100-929X.19860001
- Liu, G., Cai, Y., O'Driscoll, N., 2012. Environmental Chemistry and Toxicology of Mercury, *Environmental Chemistry and Toxicology of Mercury.* doi:10.1002/9781118146644
- MacFadden, B.J., Solounias, N., Cerling, T.E., 1999. Ancient diets, ecology, and extinction of 5-million-year-old horses from Florida. *Science* (80). 283, 824–827. <https://doi.org/10.1126/science.283.5403.824>
- Mays, S., 1998. *The Archaeology of Human Bones*, *American Anthropologist.* doi:10.4324/9780203194393
- Mays, S., 2010. *The archaeology of human bones: Second edition, The Archaeology of Human Bones: Second Edition.* doi:10.4324/9780203851777
- Mason, R.P., Reinfelder, J.R., Morel, F.M.M., 1995. Bioaccumulation of mercury and methylmercury. *Water, Air, Soil Pollut.* 80, 915–921. doi:10.1007/BF01189744

- Mason, R.P., Sheu, G.-R., 2002. Role of the ocean in the global mercury cycle. *Global Biogeochem. Cycles* 16, 40-1-40–14. doi:10.1029/2001GB001440
- Montefeltro, F.C., Larsson, H.C.E., Langer, M.C., 2011. A new baurusuchid (Crocodyliformes, Mesoeucrocodylia) from the Late Cretaceous of Brazil and the phylogeny of Baurusuchidae. *PLoS One* 6. doi:10.1371/journal.pone.0021916
- Montgomery, J., Budd, P., Cox, A., Krause, P., Thomas, R.G., 1999. LA-ICP-MS evidence for the distribution of lead and strontium in Romano-British, medieval and modern human teeth: implications for life history and exposure reconstruction, in: *Metals in Antiquity*. pp. 290–296.
- Morel, F.M.M., Kraepiel, A.M.L., Amyot, M., 1998. The chemical cycle and bioaccumulation of mercury. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29, 543–566. doi:10.1146/annurev.ecolsys.29.1.543
- Nascimento, P.M., Zaher, H., 2011. The skull of the Upper Cretaceous baurusuchid crocodile *Baurusuchus albertoi* Nascimento & Zaher 2010, and its phylogenetic affinities. *Zool. J. Linn. Soc.* 163. doi:10.1111/j.1096-3642.2011.00708.x
- Novas, F. E., 2009. *The age of dinosaurs in South America*. Indiana University Press.
- Nriagu, J., Becker, C., 2003. Volcanic emissions of mercury to the atmosphere: Global and regional inventories, in: *Science of the Total Environment*. pp. 3–12. doi:10.1016/S0048-9697(02)00552-1
- Ohio Lumex., 2012. *Mercury Analyzer RA-915+ User's Manual*. Twinsburg, OH: Ohio Lumex Company Inc. 22p.
- Oliveira, C.E.M., Santucci, R.M., Andrade, M.B., Fulfaró, V.J., Basilio, J.A.F., Benton, M.J., 2011. Crocodylomorph eggs and eggshells from the Adamantina Formation (Bauru Group), Upper Cretaceous of Brazil. *Palaeontology* 54, 309–321. doi:10.1111/j.1475-4983.2010.01028.x
- Outridge, P.M., Wagemann, R., McNeely, R., 2000. Teeth as biomonitors of soft tissue mercury concentrations in beluga, *Delphinapterus leucas*. *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 1517–1522. doi:10.1002/etc.5620190607
- Ostertag, S.K., Stern, G.A., Wang, F., Lemes, M., Chan, H.M., 2013. Mercury distribution and speciation in different brain regions of beluga whales (*Delphinapterus leucas*). *Sci. Total Environ.* 456–457, 278–286. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.03.106
- Outridge P. M., in *Mercury: Sources, Measurements, Cycles and Effects*, Mineralogical Association of Canada, Ottawa, 2005, ch. 11, pp. 217–234

- Panichev, N.A., Panicheva, S.E., 2015. Determination of total mercury in fish and sea products by direct thermal decomposition atomic absorption spectrometry. *Food Chem.* 166, 432–441. doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.032
- Paula e Silva, F., Kiang, C.H., Caetano-chang, M.R., 2003. Perfis de referência do Grupo Bauru (K) no Estado de São Paulo. *Geociências UNESP* 22, 21–32. doi:10.4072/rbp.2004.3.07
- Percival, L.M.E., Ruhl, M., Hesselbo, S.P., Jenkyns, H.C., Mather, T.A., Whiteside, J.H., 2017. Mercury evidence for pulsed volcanism during the end-Triassic mass extinction. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, 7929–7934. doi:10.1073/pnas.1705378114
- Peterson, J.E., Lenczewski, M.E., Scherer, R.P., 2010. Influence of microbial biofilms on the preservation of primary soft tissue in fossil and extant archosaurs. *PLoS One* 5. doi:10.1371/journal.pone.0013334
- Peterson, B.J., Fry, B., 1987. Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18, 293–320. doi:10.1146/annurev.es.18.110187.001453
- Pineda-Munoz, S., & Alroy, J., 2014. Dietary characterization of terrestrial mammals. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 281(1789), 20141173.
- Pol, D., 2003. New Remains of *Sphagesaurus huenei* (Crocodylomorpha: Mesoeucrocodylia) From the Late Cretaceous of Brazil. *J. Vertebr. Paleontol.* 23, 817–831. doi:10.2307/4524384
- Powell, J.E., 2003. Revision of South American Titanosaurid dinosaurs: Paleobiological, Paleobiogeographical and Phylogenetic aspects. *Records of the Queen Victoria, Melbourne* 111, 1–173.
- Pucéat, E., Reynard, B., Lécuyer, C., 2004. Can crystallinity be used to determine the degree of chemical alteration of biogenic apatites? *Chem. Geol.* 205, 83–97. doi:10.1016/j.chemgeo.2003.12.014
- Price, T.D., Knipper, C., Grupe, G., Smrcka, V., 2004. Strontium Isotopes and Prehistoric Human Migration: The Bell Beaker Period in Central Europe. *Eur. J. Archaeol.* 7, 9–40. doi:10.1177/1461957104047992
- Price, T.D., Blitz, J., Burton, J., Ezzo, J.A., 1992. Diagenesis in prehistoric bone: Problems and solutions. *J. Archaeol. Sci.* 19, 513–529. doi:10.1016/0305-4403(92)90026-Y

- Rainwater, T.R., Adair, B.M., Platt, S.G., Anderson, T.A., Cobb, G.P., McMurry, S.T., 2002. Mercury in Morelet's crocodile eggs from northern Belize. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 42, 319–324. doi:10.1007/s00244-001-0020-7
- Rasmussen, K.L., Kučera, J., Skytte, L., Kameník, J., Havránek, V., Smolík, J., Velemínský, P., Lynnerup, N., Bruzek, J., Vellej, J., 2013. Was He Murdered Or Was He Not?-Part I: Analyses of Mercury in the Remains of Tycho Brahe. *Archaeometry* 55, 1187–1195. doi:10.1111/j.1475-4754.2012.00729.x
- Rigét, F., Møller, P., Dietz, R., Nielsen, T.G., Asmund, G., Strand, J., Larsen, M.M., Hobson, K.A., 2007. Transfer of mercury in the marine food web of West Greenland. *J. Environ. Monit.* 9, 877. doi:10.1039/b704796g
- Riisgard, H.U., Hansen, S., 1990. Biomagnification of Mercury in a Marine Grazing Food-Chain Algal Cells Phaeodactylum-Tricornutum Mussels Mytilus-Edulis and Flounders Platichthys-Flesus Studied by Means of a Stepwise-Reduction-Cvaa Method. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 62, 259–270.
- Rowan, D.J., Rasmussen, J.B., 1992. Why Don't Great Lakes Fish Reflect Environmental Concentrations of Organic Contaminants? – An Analysis of Between-Lake Variability in the Ecological Partitioning of PCBS and DDT. *J. Great Lakes Res.* 18, 724–741. doi:10.1016/S0380-1330(92)71332-X
- Rytuba, J.J., 2003. Mercury from mineral deposits and potential environmental impact. *Environ. Geol.* 43, 326–338. doi:10.1007/s00254-002-0629-5
- Salgado, L., & De Souza Carvalho, I., 2008. *Uberabatitan ribeiroi*, a new titanosaur from the Marília formation (Bauru group, upper cretaceous), Minas Gerais, Brazil. *Palaeontology*, 51(4), 881-901.
- Santucci, R.M., Arruda-Campos, A.C., 2011. A new sauropod (Macronaria, Titanosauria) from the Adamantina Formation, Bauru Group, Upper Cretaceous of Brazil and the phylogenetic relationships of Aeolosaurini. *Zootaxa* 1–33.
- Santucci, R.M., Bertini, R.J., 2001. Distribuição paleogeográfica e biocronológica dos titanossauros (Saurischia, sauropoda) do Grupo Bauru, Cretáceo Superior do sudeste brasileiro. *Rev. Bras. Geociências* 31, 307–314.
- Schaefer, J.K., Rocks, S.S., Zheng, W., Liang, L., Gu, B., Morel, F.M.M., 2011. Active transport, substrate specificity, and methylation of Hg(II) in anaerobic bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 8714–8719. doi:10.1073/pnas.1105781108
- Schroeder, W. H., & Munthe, J., 1998. Atmospheric mercury—an overview. *Atmospheric environment*, 32(5), 809-822.

- Schuster, E., 1991. The behavior of mercury in the soil with special emphasis on complexation and adsorption processes - A review of the literature. *Water, Air, Soil Pollut.* 56, 667–680. doi:10.1007/BF00342308
- Selin, N.E., 2009. Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 34, 43–63. doi:10.1146/annurev.enviro.051308.084314
- Skyllberg, U., 2010. Synchrotron-Based Techniques in Soils and Sediments, *Developments in Soil Science.* doi:10.1016/S0166-2481(10)34013-X
- Straight, W.H., Barrick, R.E., Eberth, D.A., 2004. Reflections of surface water, seasonality and climate in stable oxygen isotopes from tyrannosaurid tooth enamel, in: *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology.* pp. 239–256. doi:10.1016/j.palaeo.2004.01.006
- Suda I, Takahashi H., 1990. Effect of reticuloendothelial system blockade on the biotransformation of methyl mercury in the rat. *Bull Environ Contam Toxicol*; 14: 609-15
- Tavares, S.A.S., Ricardi Branco, F., Santucci, R.M., 2014. Theropod teeth from the Adamantina Formation (Bauru Group, Upper Cretaceous), Monte Alto, São Paulo, Brazil. *Cretac. Res.* 50, 59–71. doi:10.1016/j.cretres.2014.03.021
- Thibodeau, A.M., Ritterbush, K., Yager, J.A., West, A.J., Ibarra, Y., Bottjer, D.J., Berelson, W.M., Bergquist, B.A., Corsetti, F.A., 2016. Mercury anomalies and the timing of biotic recovery following the end-Triassic mass extinction. *Nat. Commun.* 7, 11147. doi:10.1038/ncomms11147
- Trueman, C.N., Privat, K., Field, J., 2008. Why do crystallinity values fail to predict the extent of diagenetic alteration of bone mineral? *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 266, 160–167. doi:10.1016/j.palaeo.2008.03.038
- Trueman, C. N., & Tuross, N. (2002). Trace elements in recent and fossil bone apatite. *Reviews in mineralogy and geochemistry*, 48(1), 489-521.
- Ubillús, F., Barberá, R., Farré, R., Lagarda, M. J., & Alegría, A., 2000. Methylmercury and inorganic mercury determination in fish by cold vapour generation atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, 71(4), 529-533.
- Ullrich, S.M., Tanton, T.W., Abdrashitova, S.A., 2001. Mercury in the Aquatic Environment: A Review of Factors Affecting Methylation. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 31, 241–293. doi:10.1080/20016491089226

- Upchurch, P., Barrett, P. M., & Dodson, P., 2004. Sauropoda. 259–322. *The Dinosauria. Second edition. University of California Press, Berkeley, CA.*
- Wang, Y., Cerling, T.E., 1994. A model of fossil tooth and bone diagenesis: implications for paleodiet reconstruction from stable isotopes. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 107, 281–289. doi:10.1016/0031-0182(94)90100-7
- Watras, C. J., Back, R. C., Halvorsen, S., Hudson, R. J. M., Morrison, K. A., & Wentz, S. P., 1998. Bioaccumulation of mercury in pelagic freshwater food webs. *Science of the Total Environment*, 219(2-3), 183-208.
- White, T.D., Ambrose, S.H., Suwa, G., Su, D.F., Degusta, D., Bernor, R.L., Boisserie, J.R., Brunet, M., Delson, E., Frost, S., Garcia, N., Giaourtsakis, L.X., Haile-Selassie, Y., Clark Howell, F., Lehmann, T., Likius, A., Pehlevan, C., Saegusa, H., Semprebon, G., Teaford, M., Vrba, E., 2009. Macrovertebrate paleontology and the pliocene habitat of *ardipithecus ramidus*. *Science* (80-. ). 326, 87–93. doi:10.1126/science.1175822
- WHO. (1990). Environmental Health Criteria 101 (IPCS). Methylmercury. World Health Organization. Geneva.
- World Health Organization Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations; Thirty-second report, WHO Technical Report Series, No.823, Geneva, 1992.
- Xing, L., Bell, P.R., Persons, W.S., Ji, S., Miyashita, T., Burns, M.E., Ji, Q., Currie, P.J., 2012. Abdominal Contents from Two Large Early Cretaceous Compsognathids (Dinosauria: Theropoda) Demonstrate Feeding on Confuciusornithids and Dromaeosaurids. *PLoS One* 7. doi:10.1371/journal.pone.0044012
- Zhu, K., Yanagisawa, K., Shimanouchi, R., Onda, A., Kajiyoshi, K., 2006. Preferential occupancy of metal ions in the hydroxyapatite solid solutions synthesized by hydrothermal method. *J. Eur. Ceram. Soc.* 26, 509–513. doi:10.1016/j.jeurceramsoc.2005.07.019

## **CAPÍTULO 5**

### **Conclusões**

## 5.1. CONCLUSÕES

- A metodologia de estudo aqui proposta é validada e baseada na técnica analítica de espectrometria de absorção atômica Zeeman e possibilitou a determinação de Mercúrio Total (HgT) em tecidos biomineralizados (i.e. dentes, ossos, placas dérmicas, escamas de peixes e casca de ovos) de fósseis de vertebrados coletados nas formações Adamantina, Uberaba e Marília do Grupo Bauru, centro-sudeste do Brasil.
- Uma vez que foi possível discriminar concentrações específicas de Hg para os espécimes fósseis analisados, caracterizou-se quantitativamente a posição trófica de táxons referentes a peixes, anfíbios, testudinos, crocodiliformes, dinossauros (saurópodes e terópodes não avianos) e aves. Considera-se, portanto, que a hipótese deste estudo foi testada e aceita.
- O capítulo 3, intitulado *Mercury concentrations in terrestrial fossil vertebrates from the Bauru Group (Upper Cretaceous), Brazil and its implications for vertebrate paleontology* é o cerne desta pesquisa e descreve através de um simples protocolo metodológico medições de HgT em fósseis de Baurusuquídeos (Crocodylomorpha) da Formação Adamantina. Os resultados reportam leves flutuações da concentração de Hg nos diferentes tipos de tecidos analisados, com dentes e ossos recuperando mais Hg do que osteodermos e, conseqüentemente, sendo os tecidos mais indicados para este tipo de análise.
- Os espécimes adultos de Baurusuquídeos apresentaram aproximadamente 30% mais mercúrio em seus ossos do que o indivíduo juvenil, o que aponta para um processo contínuo de acumulação deste elemento ao longo da sua história de vida. Ainda, a diferença de concentração de Hg verificada nos baurusuquídeos pode ser alternativamente interpretada como indício da variabilidade de itens alimentares durante as diferentes etapas ontogenéticas dos animais.
- Em síntese, a contaminação natural sugerida aos vertebrados fósseis relaciona-se à disponibilidade ambiental do Hg e à conseqüente exposição destes animais em seus paleoecossistemas, sendo a decomposição de rochas basálticas da Formação Serra Geral a fonte mais provável do enriquecimento deste elemento nos sedimentos da Bacia Bauru.
- Ressalta-se, que este é o primeiro e mais antigo registro da contaminação por Hg natural em vertebrados fósseis e que os resultados aqui apresentados são importantes



para a compreensão de fenômenos que ocorreram em ambientes passados e que não são mais bem conhecidos por falta de evidência fóssil direta.

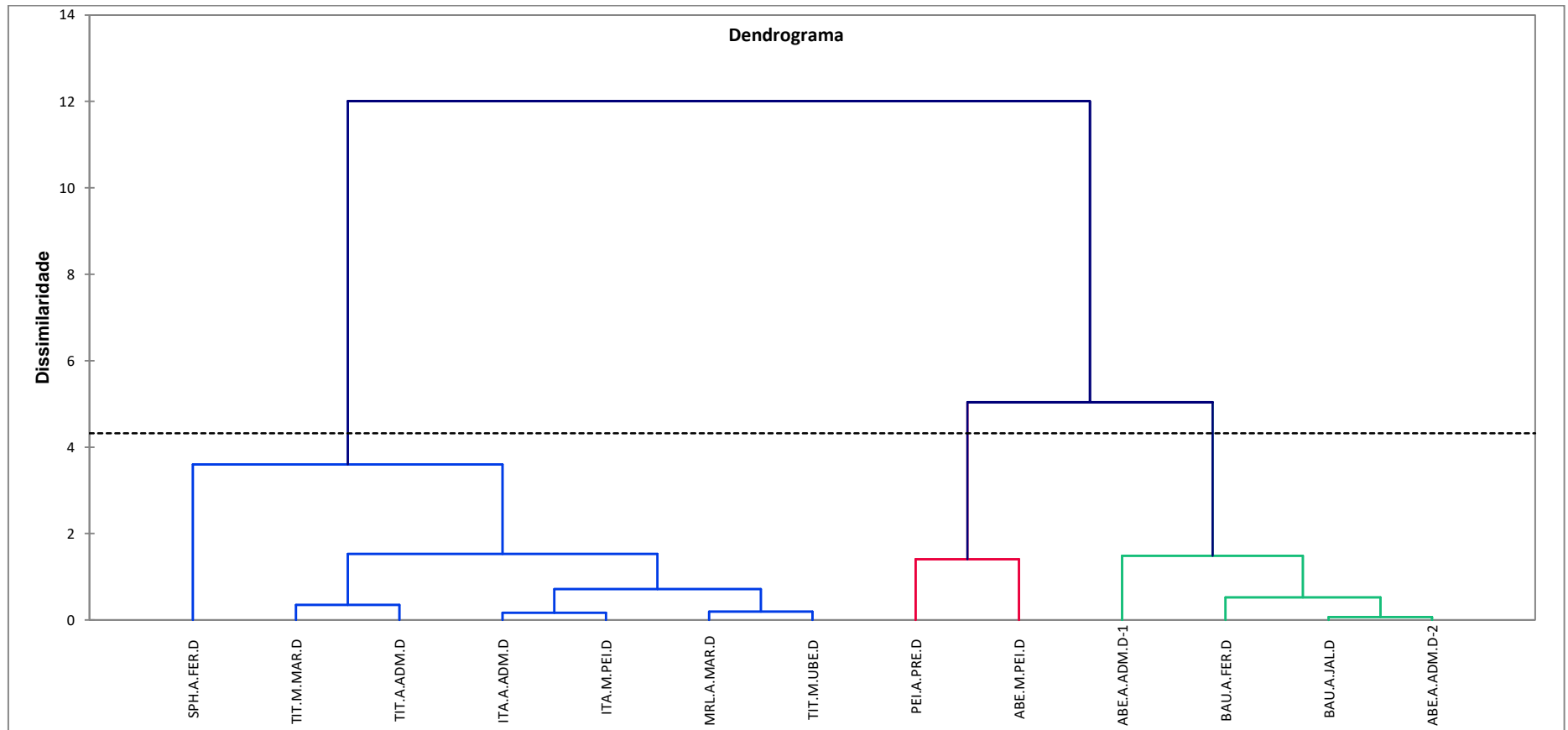
- Deste modo, uma vez que muitos trabalhos têm como foco a correlação entre emissões vulcânicas de Hg e eventos de extinção massa, porém, com dados essencialmente evidenciados em rochas, as análises em registro fóssil de uma mesma unidade estratigráfica podem fornecer informações mais precisas sobre anomalias de Hg e suas implicações na biota de ecossistemas pretéritos. Ainda, em casos muito específicos para crocodiliformes e dinossauros que apresentem placas dérmicas, a determinação da concentração de Hg pode ser utilizada para a identificação de fêmeas.
- No capítulo intitulado **Bioacumulação e biomagnificação de Hg em vertebrados fósseis do Grupo Bauru (Cretáceo): uma nova metodologia para reconstrução de relações ecológicas em paleoecossistemas**, os resultados apontam para diferentes concentrações de Hg entre os táxons analisados (i.e. peixes, anfíbios, testudines, crocodilomorfos notosuquíos, dinossauros saurópodes e terópodes, incluindo aves) e valores relativamente iguais para um mesmo grupo (clado), independente da formação geológica em que foram encontrados.
- A diferença nos valores medidos nos espécimes fósseis permitiu posicioná-los em níveis tróficos: os crocodiliformes do gênero *Baurusuchus* e os dinossauros terópodes Abelissauridae apresentaram a maior concentração de Hg em seus tecidos biomineralizados, com valores entre 10 e 14 ng.g<sup>-1</sup> de Hg e são considerados os predadores de topo dos paleoecossistemas do Grupo Bauru.
- Já para os dinossauros Saurópodes (titanossauros) foram registrados em seus ossos e dentes valores de concentração próximos a 4,0 ng.g<sup>-1</sup> de Hg, ou seja, 73% menos mercúrio do que foi verificado nos predadores de topo aqui citados, o que certamente é consoante com a anatomia descrita para grande herbívoro e consumidor primário.
- Consumidores intermediários são descritos por um crocodiliforme Peirosauridae com o registro de 9,15 ng.g<sup>-1</sup> de Hg, seguido de Sphagessauridae, *Montealtosuchus* (Peirosauridae), aves e tartarugas com valores médios entre 7,0 e 5,0 ng.g<sup>-1</sup> de Hg. O comportamento trófico para estes táxons é sugerido em uma faixa de transição entre carnivoría e onivoría, no entanto, especializações alimentares como insetivoría, piscivoría e necrofagia não são descartadas e, futuramente, poderão ser detalhadas pela

conjugação de dados geoquímicos, morfológicos e icnofósseis, como conteúdo coprolítico.

- Outros espécimes de crocodiliformes como *Adamantinasuchus*, *Morrinhosuchus*, *Mariliasuchus*, *Itasuchus*, além de peixes Lepisosteiformes e tartarugas *Roxochelys* apresentaram valores mais baixos, entre 4,0 e 2,0 ng.g<sup>-1</sup> de Hg e foram agrupadas na faixa correspondente para onívoros e herbívoros. Esta diferença na quantidade de Hg somada à grande variabilidade morfológica são indícios para a diversidade de comportamento alimentar dos crocodiliformes nos paleoecossistemas cretáceos.
- Os fenômenos de bioacumulação e biomagnificação trófica de Hg também fazem parte da hipótese deste estudo e foram evidenciados nas análises para crocodiliformes. Os valores medidos entre indivíduos juvenis e adultos de *Baususuchidae*, *Pissarrachamps* e *Caipirasuchus* reportaram uma diferença entre 17% e 38% mais Hg nos ossos dos indivíduos adultos, sugerindo a existência de uma acumulação contínua de Hg e que está diretamente relacionada à atividade trófica dos espécimes analisados. Já a biomagnificação trófica sugerida a partir da evidência direta de predação entre crocodilos fósseis foi confirmada, sendo apontados 51,7% mais Hg no predador (*Aplestosuchus*) em relação à presa (Sphagessaurídeo) descrita em sua cavidade abdominal.
- Por fim, o presente trabalho trata-se de uma proposição metodológica que se demonstra como uma ferramenta importante, acessível e eficaz à quantificação de Hg em tecidos fósseis, possibilitando desvendar um valioso registro da história da vida de animais e ambientes pretéritos e que potencialmente pode ser aplicada em fósseis pertencentes a diferentes regiões do globo, assim como a outros períodos.

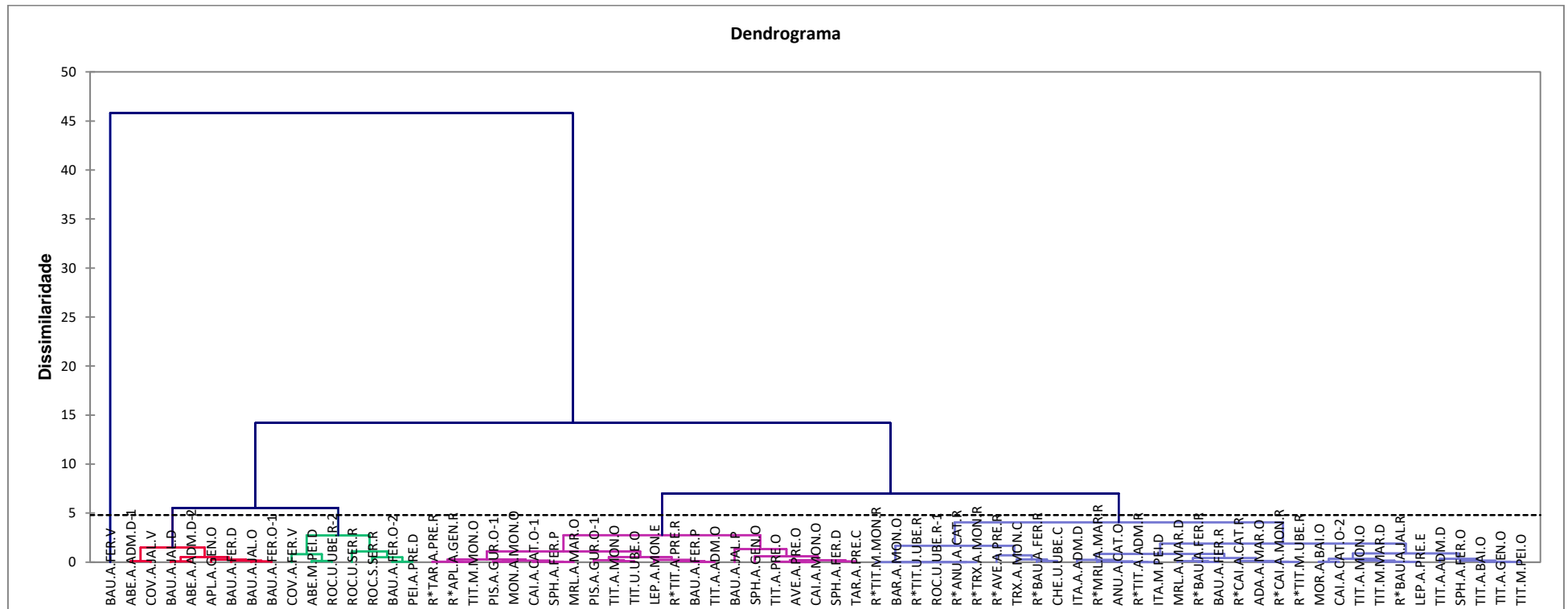
## ANEXO 1

Análise de Cluster, com dissimilaridade: método de ligação complexa por aglomeração e distância euclidiana, resultado de correlação cofenética: 0,919. Legenda: Táxon SPH, Sphagesauridae; TIT, Titanosauridae; ITA, *Itasuchus*; MRL, *Mariliasuchus*; PEI, Peirosauridae



## ANEXO 2

Análise de Agrupamento de Cluster Geral realizada com todas as amostras analisadas. As matrizes analíticas são representadas por tecidos biomineralizados e carbonáticos (osso, dente, placa dérmica e Ovo), Rochas sedimentares das formações de Adamantina, Uberaba e Marília e Rochas Ígneas da formação Serra Geral. Apresenta Dissimilaridade por distância euclidiana e método de aglomeração: Lincagem completa. Resultado, correlação cophenetic: 0,939.



### ANEXO 3 – Material Suplementar de Análise HgT em Triplicatas

Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
1	Baurusuchidae adulto - Jales - Formação Adamantina - Placa dérmica - Ja01P	200	201	204	103	104	104	3	3	3	6,9658043	7,0238325	7,0238325	7,0044897	0,0335026	103	103,482587	101,960784	1,39316428	1,39876501	1,38110351	1,391010934	20/07/2017
2	Baurusuchidae adulto - Jales - Formação Adamantina - Dente - Ja01D	202	200	202	215	215	203	4	5	4	13,464958	13,464958	12,76862	13,232845	0,4020309	212,871287	215	200,990099	2,66829092	2,692996	2,53040212	2,630563013	20/07/2017
3	Baurusuchidae adulto - Jales - Formação Adamantina - Osso - JA01O	198	201	200	200	205	205	4	5	4	12,594535	12,884676	12,884676	12,787963	0,1675129	202,020202	203,9801	205	2,54235713	2,56510299	2,57693959	2,561466572	20/07/2017
4	Baurusuchidae adulto - Jales - Formação Adamantina - Rocha - Ja01R	205	214	201	41	44	41	3	4	3	3,3680587	3,5421431	3,3680587	3,4260868	0,1005077	40	41,1214953	40,7960199	0,66200894	0,67502461	0,67124726	0,669426934	20/07/2017
5	Baurusuchidae adulto - Fernandópolis - Formação Adamantina - Osso - Fe01O	200	204	200	203	208	203	4	5	3	12,76862	13,058761	12,76862	12,865333	0,1675129	203	203,921569	203	2,55372831	2,56442371	2,55372831	2,557293443	20/07/2017
6	Baurusuchidae adulto - Fernandópolis - Formação Adamantina - Dente - Fe01D	207	200	201	201	205	200	4	4	3	12,652564	12,884676	12,594535	12,710592	0,1535281	194,202899	205	199,004975	2,45163232	2,57693959	2,50736349	2,511978466	20/07/2017

Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
7	Baurusuchidae adulto - Rocha - Formação Adamantina - Rocha - Fe01R	215	257		32	24		4	3		2,84580526	2,381580016		2,613692638	0,328256818	29,76744186	18,6770428	#DIV/0!	0,543253547	0,414542364	#DIV/0!	#DIV/0!	20/07/2017
8	Baurusuchidae juvenil - Fm Adamantina - Osso - Fe02O	201	200		140	140		14	11		9,112846057	9,112846057		9,112846057	0	139,3034826	140	#DIV/0!	1,81448944	1,82257297	#DIV/0!	#DIV/0!	20/07/2017
9	Baurusuchidae Juvenil - Fernandópolis - Fm Adamantina - Placa dérmica - Fe02P	203	200	150	76	64	50	10	6	5	5,399044103	4,702706237	3,89031206	4,6640208	0,755109606	74,87684729	64	66,66666667	1,066777082	0,940544305	0,971492679	0,992938022	20/07/2017
10	Baurusuchidae - Fernandópolis - Fm Adamantina - Ovo - Fe03O	260			1323			111			77,76015405			77,76015405		1017,692308	#DIV/0!	#DIV/0!	12,00875422	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	20/07/2017
11	Morrinhosuchus - Monte Alto (bairro barreiro) - Formação Adamantina	203	204	203	65	81	36	5	4	3	3,462621328	4,491097255	1,59850871	3,184075764	1,466273456	64,03940887	79,41176471	35,4679803	0,680157467	0,87777861	0,31285408	0,623596719	14/07/2017
12	Tartaruga - Roxochelys - Monte Alto - Formação Adamantina	200	204	205	23	12	0	4	4	3	2,323552	1,685242	0,988904	1,665899333	0,667534213	23	11,76470588	0	0,464713051	0,334320268	0,197783323	0,332272214	20/07/2017

Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
13	Aelossauro Máximos - Monte alto - Formação Adamantina - MPMA 12000197	200	208	206	59	55	60	13	15	16	4,412565	4,180453	4,470594	4,354537333	0,153528035	59	52,88461538	58,25242718	0,882516103	0,811543148	0,873840042	0,855966431	20/07/2017
14	Titanossaurídeo - Marília - Formação Marília - Membro Echaporã - Osso	230	230	210	52	36	35	3	1	2	2,626984637	1,59850871	1,534228964	1,919907437	0,61318969	45,2173913	31,30434783	33,33333333	0,438188789	0,259328009	0,285411873	0,32764289	14/07/2017
15	Itasuchus - Adamantina - Formação Adamantina	202	205	200	20	21	21	2	2	2	2,149462	2,207496	2,207496	2,188151333	0,033505946	19,8019802	20,48780488	21	0,427597983	0,43994435	0,445888702	0,437810345	20/07/2017
16	Anuro - Catanduva - Formação Adamantina - Osso	200	200	166	23	23	24	3	3	3	2,323552	2,323552	2,38158	2,342894667	0,033502481	23	23	28,91566265	0,464713051	0,469099983	0,537755036	0,49052269	20/07/2017
17	Anuro - Catanduva - Formação Adamantina - Rocha	200	201	215	-23	-33	3	2	3	2	-0,34574	-0,92602	1,162989	-0,036257	1,07834338	-23	-32,8358209	2,790697674	-0,069146405	-0,183297405	0,230171156	-0,007424218	20/07/2017
18	Caipirasuchus - Juvenil - Catanduva - Formação Adamantina - MPMA68-0003-12	206	200	201	42	52	22	3	5	3	1,984187183	2,626984637	0,698592274	1,769921364	0,981889331	40,77669903	52	21,89054726	0,381100943	0,525383419	0,13830778	0,348264047	14/07/2017

Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
19	Caipirasuchus - Catanduva - Formação Adamantina - Rocha - MPMA68-0003-12	215	215	200	62	43	0	4	4	2	4,586649926	3,484114971	0,988904283	3,019889727	1,843250454	57,6744186	40	0	0,867131882	0,662008936	0,197783323	0,57564138	20/07/2017
20	Caipirasuchus Paulistanus - Monte alto - Formação Adamantina - Osso - MPMA67-0001-00	215	204	210	37	114	93	3	5	4	3,135946038	7,604114014	6,385522747	5,7085276	2,309734419	34,41860465	111,7647059	88,57142857	0,597233269	1,494884302	1,225711467	1,105943013	20/07/2017
21	Caipirasuchus Paulistanus - Monte alto - Formação Adamantina - Rocha - MPMA67-0001-00	203	216	203	43	57	0	5	3	1	3,484114971	4,296509148	0,988904283	2,923176134	1,723673916	42,36453202	52,77777778	0	0,689450845	0,81030323	0,197783323	0,565845799	20/07/2017
22	Mariliasuchus - Marília - Formação Adamantina - Dente	200	208	207	35	16	38	2	2	3	3,019889727	1,917354771	3,193974193	2,71040623	0,692296405	35	15,38461538	36,71497585	0,603980735	0,376331636	0,623884127	0,534732166	20/07/2017
23	Mariliasuchus - Marília - Formação Adamantina - Rocha	200	215	216	17	37	20	4	5	4	1,975382927	3,135946038	2,149467394	2,420265453	0,625879681	17	34,41860465	18,51851852	0,395079208	0,597233269	0,412702588	0,468338355	20/07/2017
24	Tartaruguita - Presidente Prudente - Formação Adamantina - Carapaça	200	215	203	75	87	90	4	3	3	5,341015948	6,037353814	6,211438281	5,863269348	0,460584206	75	80,93023256	88,66995074	1,068206348	1,137030494	1,22685488	1,144030574	20/07/2017



Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
25	Tartaruguita - Presidente Prudente - Formação Adamantina - Rocha	202	200	204	69	88	69	3	4	3	4,992847015	6,09538197	4,992847015	5,360358666	0,636548853	68,31683168	88	67,64705882	0,9906439	1,219079673	0,982870758	1,06419811	20/07/2017
26	Titanossauro - Formação Adamantina - Adamantina - Osso - FUPPV0020	200	206	209	86	21	82	5	4	5	5,979325659	2,207495549	5,747213037	4,644678081	2,1138503	86	20,38834951	78,46889952	1,195868392	0,434403174	1,108465149	0,912912238	20/07/2017
27	Titanossauro - Formação Adamantina - Adamantina - Rocha - FUPPV0020	205	200	200	45	13	13	4	3	3	3,600171282	1,743270305	1,743270305	2,362237297	1,072082279	43,90243902	13	13	0,70729924	0,348656647	0,348656647	0,468204178	20/07/2017
28	Titanossauro - General Salgado - Formação Adamantina	209	220		73	28		4	3		5,224959637	2,613692638		3,919326137	1,846444602	69,85645933	25,45454545	#DIV/0!	1,008512265	0,493199622	#DIV/0!	#DIV/0!	20/07/2017
29	Adamantinas uchus - Marília - Formação Marília - Osso - FUPPV000019	207	202	210	52	30	20	4	3	2	4,006368371	2,729748949	2,149467394	2,961861571	0,949961847	50,24154589	29,7029703	19,04761905	0,780868635	0,542505313	0,418843139	0,580739029	20/07/2017
30	Ovo - Bauruólitos - Fernandópolis - Formação Adamantina - Rocha - Ja04	257	205		9	9		4	3		1,511157683	1,511157683		1,511157683	0	7,003891051	8,780487805	#DIV/0!	0,279067963	0,299686506	#DIV/0!	#DIV/0!	20/07/2017

Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx .1	Máx .2	Máx .3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
31	Titanossauro - General Salgado - Rocha - Formação Adamantina	200	201	200	-30	0	0	2	2	2	- 0,7519 40383	0,988904 283	0,988904 283	0,408622 728	1,0050 77137	-30	0	0	- 0,150385 888	0,197783 323	0,197783 323	0,0817 26919	20/07/2 017
32	Peirossaurídeo - Presidente Prudente - Formação Adamantina - FUPPV000023	202	206	200	87	168	167	10	8	8	6,0373 53814	10,73763 441	10,67960 626	9,151531 494	2,6971 13046	86,1386138 6	163,10 67961	167	1,197477 095	2,090742 136	2,135925 26	1,8080 48163	20/07/2 017
33	Titanossaurídeo - ad 02 - Adamantina - Formação Adamantina - FUPPV000030	201	202	215	32	66	43	4	4	4	2,8458 0526	4,818762 548	3,484114 971	3,716227 593	1,0067 50871	31,8407960 2	65,346 53465	40	0,567316 149	0,956171 701	0,662008 936	0,7284 98929	20/07/2 017
34	Tartaruga - Roxochelys - Monte Alto - Formação Adamantina - Rocha	200	201	204	0	0	0	1	2	2	0,9889 04283	0,988904 283	0,988904 283	0,988904 283	0	0	0	0	0,197783 323	0,197783 323	0,197783 323	0,1977 83323	20/07/2 017
35	Barreirosuchus - Monte Alto - Formação Adamantina - MPMA040002-00	200	203	200	-20	-15	-3	1	2	1	- 0,1716 58828	0,118481 95	0,814819 816	0,253880 98	0,5069 85899	-20	- 14,778 32512	-3	- 0,034329 484	0,026271 396	0,162966 402	0,0516 36105	20/07/2 017
36	Aves - Presidente Prudente - Formação Adamantina - Osso	200	202	220	130	110	60	5	5	3	7,6408 04782	6,355209 873	3,141222 601	5,712412 419	2,3176 39182	130	108,91 08911	54,545 45455	1,528121 666	1,257008 126	0,558106 811	1,1144 12201	14/07/2 017

Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
37	Aves - Presidente Prudente - Formação Adamantina - Rocha	205	203	215	34	9	35	4	4	3	1,469949219	- 0,137044417	1,534228964	0,955711255	0,946899779	33,17073171	8,866995074	32,55813953	0,283321528	- 0,029118039	0,275446277	0,176549922	14/07/2017
38	Caipirasuc hus Catanduva - Formação Adamantina - Osso	202	204	205	78	98	99	5	4	5	4,298258019	5,583852928	5,648132673	5,176747873	0,761473105	77,22772277	96,07843137	96,58536585	0,8497014	1,092038919	1,098555875	1,013432064	14/07/2017
39	Brasilotita n - Presidente Prudente - Formação Adamantina - Osso	202	202	204	99	99	100	4	4	2	5,648132673	5,648132673	5,712412419	5,669559255	0,037111928	98,01980198	98,01980198	98,03921569	1,116996439	1,116996439	1,117246014	1,11707963	14/07/2017
40	Brasilotita n - Presidente Prudente - Formação Adamantina - Rocha	201	201	202	80	83	83	4	4	4	4,42681751	4,619656746	4,619656746	4,555377001	0,111335785	79,60199005	82,58706468	82,17821782	0,880224074	0,918599055	0,913343076	0,904055401	14/07/2017
41	Sphagessuro - Fernandópolis - Fm Adamantina - Dente	202	202	201	53	10	52	2	2	2	6,733466289	3,967125579	6,669132784	5,789908218	1,578903769	52,47524752	9,900990099	51,74129353	1,339941425	0,792151185	1,330497858	1,154196823	11/07/2017
42	Sphagessuro - Fernandópolis - Fm Adamantina - Placa dérmica	204	200	205	30	29	29	5	3	4	5,253795677	5,189462172	5,189462172	5,210906674	0,037142966	29,41176471	29	28,29268293	1,043190488	1,037892434	1,028791597	1,03662484	11/07/2017

Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
43	Dinotitan - Formação Adamantina - Marília - Osso	201	205	202	14	0	15	3	0	3	4,224459599	3,32379053	4,288793103	3,945681077	0,539532751	13,93034826	0	14,85148515	0,843995732	0,664758106	0,855847725	0,788200521	11/07/2017
44	Mariliasuchus - Formação Adamantina - Marília	200	208	207	35	16	38	2	2	3	5,575463201	4,353126608	5,768463716	5,232351175	0,767521452	35	15,38461538	36,71497585	1,11509264	0,862707352	1,137158722	1,038319571	11/07/2017
45	Theropoda - Adamantina - Formação Adamantina - FUPPV000031	215	218	220	88	87	63	5	7	5	14,17537679	14,05872334	11,25904064	13,16438026	1,651103055	81,86046512	79,81651376	57,27272727	2,691835778	2,644148984	2,118186909	2,48472389	01/11/2017
46	Aplestosucus - General Salgado - Formação Adamantina - Osso - LPPR-USP 0229a	135	125	135	76	75	82	11	9	9	12,77553544	12,65888199	13,47545611	12,96995785	0,441642818	112,5925926	120	121,4814815	3,408837492	3,581657412	3,616221396	3,5355721	01/11/2017
47	Sphagessaurídeo - General Salgado - Formação Adamantina - Osso - LPPR-USP b	100	101	100	26	40	3	3	3	2	6,942863142	8,576011385	4,259833885	6,592902804	2,179266214	52	79,20792079	6	1,995170547	2,629950091	0,921958845	1,849026494	01/11/2017
48	Rocha Fossil in Fossil - General Salgado - Formação Adamantina	213	215	213	14	16	6	2	3	3	5,543021791	5,776328683	4,609794223	5,309714899	0,617272015	13,14553991	14,88372093	5,633802817	1,088669215	1,129222177	0,913415212	1,043768868	01/11/2017

Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
49	Abelissauridae - Adamantina - Formação Adamantina - FUPPV000032	202	210	202	91	119	91	13	11	12	13,20485193	16,17421238	13,20485193	14,19463875	1,714361051	90,0990099	113,3333333	90,0990099	2,884046706	3,426119484	2,884046706	3,064737632	01/11/2017
50	Abelissauridae - Adamantina - Formação Adamantina - FUPPV000025	206	202	202	18	35	118	4	4	5	6,009635575	7,992744156	17,67498017	10,55911997	6,241776969	17,47572816	34,65346535	116,8316832	1,189695491	1,590463939	3,507738397	2,095965942	01/11/2017
51	Basalto Base - Santa Rita de Passa Quatro	240	234	245	11	39	72	2	3	4	5,193061453	8,459357939	12,30892166	8,653780349	3,561911939	9,166666667	33,33333333	58,7755102	0,99583936	1,559664349	2,15324787	1,56958386	01/11/2017
52	Basalto Topo - Santa Rita de Passa Quatro	215	200		86	14		4	4		13,9420699	5,543021791		9,742545845	5,939023873	80	14	#DIV/0!	2,648429845	1,108604358	#DIV/0!	#DIV/0!	01/11/2017
53	Titanosaurídeo Ponto 1. Serra da Galga - Formação Marília - FUP000026	201	201	200	44	44	42	5	4	4	3,990377368	3,990377368	3,739133712	3,906629483	0,145055592	43,78109453	43,78109453	42	0,792575612	0,792575612	0,747826742	0,777659322	19/11/2017
54	Silt - Uberaba Km 153/Br050	200	200	201	-23	20	12	2	2	1	4,426285111	0,975453495	0,02952113	1,160117582	2,872869862	-23	20	11,94029851	0,885257022	0,195090699	0,007404188	0,232523504	19/11/2017

Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
55	Areia - Uberaba Km 153/Br 050	215	205	205	-5	-6	11	3	4	2	- 2,165092 206	- 2,290714 034	- 0,155142 958	- 1,536983 066	1,198355 863	- 4,651162 791	- 5,853658 537	10,73170 732	- 0,424254 128	- 0,454466 07	- 0,037769 275	- 0,3054964 91	19/11/2 017
56	Coprólito Theropoda - Formação Adamantina (Doação Willian Navae)	200	205	205	44	25	65	5	5	8	3,990377 368	1,603562 635	6,628435 757	4,074125 253	2,513483 192	44	24,39024 39	63,41463 415	0,798075 474	0,305392 792	1,285855 84	0,7964413 69	19/11/2 017
57	Itasuchus Ponto 1 - Peirópolis - Formação Marília - Dente - FUP000024	239	230	230	29	32	32	3	3	3	2,106049 947	2,482915 431	2,482915 431	2,357293 603	0,217583 389	24,26778 243	27,82608 696	27,82608 696	0,302316 025	0,391716 169	0,391716 169	0,3619161 21	19/11/2 017
58	Titanossaurídeo em descrição - Uberaba - Formação Uberaba - Osso - FUPPV000022	100	134	132	58	71	112	4	7	8	3,012663 11	3,848299 801	6,483769 364	4,448244 092	1,811655 188	116	105,9701 493	169,6969 697	1,348143 006	1,219203 071	2,038450 766	1,5352656 14	14/07/2 017
59	Titanossaurídeo em descrição - Uberaba - Formação Uberaba - Rocha - FUPPV000022	204	202	200	16	17	19	7	6	6	0,312913 801	0,377193 546	0,505753 037	0,398620 128	0,098188 933	15,68627 451	16,83168 317	19	0,058548 016	0,073272 953	0,101148 007	0,0776563 25	14/07/2 017
60	Chelonia - Br 050 - Uberaba - formação Uberaba	200	203	230	34	34	30	3	3	4	1,469949 219	1,469949 219	1,212830 237	1,384242 892	0,148447 713	34	33,49753 695	26,08695 652	0,293982 285	0,287522 812	0,192255 216	0,2579201 04	14/07/2 017

Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
61	Titanossaurídeo - Uberaba - Formação Marília Membro Serra da Galga - Dente - FUPPV000028	202	230	202	59	51	59	5	4	5	3,076942855	2,562704892	3,076942855	2,905530201	0,296895427	58,41584158	44,34782609	58,41584158	0,607863031	0,42700999	0,607863031	0,547578684	14/07/2017
62	Pisarrachamps a adulto Gurinhata - Formação Adamantina - Osso - 0019lprp	210	208	208	71	70	72	5	5	4	5,108903	5,050875	5,166931	5,108903	0,058028	67,61904762	67,30769231	69,23076923	0,98254567	0,978932192	1,001250731	0,987576197	20/07/2017
63	Pisarrachamps a juvenil Gurinhata - Formação Adamantina - Osso - 0049lprp	200	203	200	52	52	65	5	5	5	4,006368	4,006368	4,760734	4,257823333	0,435533413	52	51,23152709	65	0,80127662	0,792358	0,952149945	0,848594855	20/07/2017
64	Montealtosuchus - Monte alto - Formação Adamantina - Osso - MPMA 16 - 0007 - 04	205	208	207	97	126	47	4	5	3	5,519573182	7,383685801	2,30558591	5,069614964	2,568778197	94,63414634	121,1538462	45,41062802	1,073471741	1,414398886	0,440672966	0,976181198	14/07/2017
65	Titanossaurídeo Campestre -	200	200	200	69	118	95	4	4	4	3,71974031	6,869447837	5,391013692	5,326733946	1,57583733	69	118	95	0,743928934	1,373854243	1,078175016	1,065319398	14/07/2017
66	Titanossaurídeo Campestre - Monte alto - formação Adamantina - Rocha															#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	14/07/2017

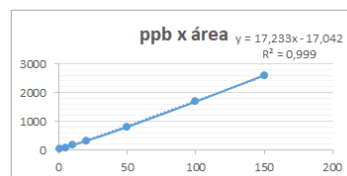
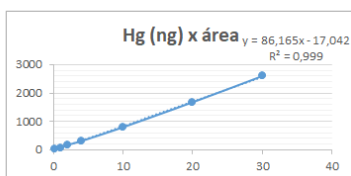
Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
67	64. Morrinhosucus - Barreiro - Formação Adamantina - Osso	203	204	203	65	81	36	5	4	3	3,462621328	4,491097255	1,59850871	3,184075764	1,466273456	64,03940887	79,41176471	35,4679803	0,680157467	0,87777861	0,31285408	0,623596719	14/07/2017
68	Mariliassuchus - Marília - Formação Adamantina - Osso - FUPPV000034	200	201	202	69	118	151	9	8	10	3,871117358	5,248489108	6,176106817	5,098571094	1,159784747	69	117,4129353	149,5049505	0,774201709	1,046367975	1,226781822	1,015783835	21/12/2017
69	Peixes Lepisosteiformes - Tartaruguito - Fm Adamantina - Escama	215	218	240	58	59	40	5	5	4	3,561911455	3,590021082	3,055938159	3,402623565	0,300567157	53,95348837	54,12844037	33,33333333	0,689613719	0,690597259	0,573692002	0,651300993	21/12/2017
70	Dinotitan Caudal Grande - Formação Adamantina - Osso	104	100	101	39	67	62	3	4	4	3,027828531	3,814898103	3,674349965	3,5056922	0,419766255	75	134	122,7722772	0,807932314	1,139616595	1,076496949	1,008015286	21/12/2017
71	Titanosaurídeo Serra da Galga - Uberaba - Fm Uberaba - Osso	200	201	202	63	231	63	6	6	5	3,702459592	8,42487702	3,702459592	5,276598735	2,726488973	63	229,8507463	62,37623762	0,740471104	1,678467204	0,736964457	1,051967588	21/12/2017
72	Casca de Ovo - Ninho do chão - Jales - Ja03	170	200	180	624	331	343	40	20	20	19,47196065	11,23583978	11,57315531	14,09365191	4,660804555	734,1176471	331	381,1111111	4,51333847	2,24710479	2,528817805	3,096420355	21/12/2017



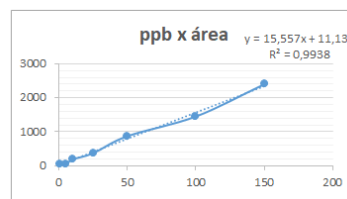
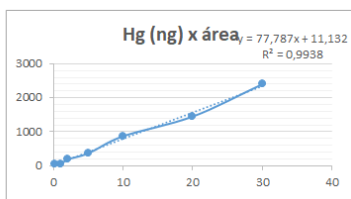
Item	Descrição	Massa 1	Massa 2	Massa 3	Área 1	Área 2	Área 3	Máx. 1	Máx. 2	Máx. 3	ppb 1	ppb 2	ppb 3	Média ppb	SD ppb	Norm. área 1	Norm. área 2	Norm. área 3	Hg (ng) 1	Hg (ng) 2	Hg (ng) 3	Média Hg (ng)	Curva utilizada
73	Casca de Ovo - Ninho Fechado - Ja04	200	224	222	315	390	303	23	22	25	10,78608573	12,8943078	10,4487702	11,37638791	1,325332423	315	348,2142857	272,972973	2,15715651	2,343879501	1,920890336	2,140642116	21/12/2017
74	Sphagssuro - Fernandópolis - Fm Adamantina - Osso	200	222	215	11	55	161	3	6	5	2,24075896	3,477582572	6,457203092	4,058514875	2,167420595	11	49,54954955	149,7674419	0,448139195	0,664855799	1,228257487	0,780417494	21/12/2017
75	Rocha - Uberaba - Vulcão	220	210	202	309	308	309	9	9	8	10,61742797	10,58931834	10,61742797	10,60805809	0,016229101	280,9090909	293,3333333	305,9405941	1,965505346	2,035351548	2,106226636	2,03569451	21/12/2017
76	Paelosucus Juvenil - Pará	228	366	223	425	643	374	56	63	41	13,87814476	20,00604357	12,44455376	15,44291403	4,016268066	372,8070175	351,3661202	335,426009	2,482134122	2,361598382	2,271986783	2,371906429	21/12/2017
77	Jacaré Melanosucus	215			104			10			4,854954322					96,74418605	#DIV/0!	#DIV/0!	0,930173072	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	21/12/2017
78	Dente de Tubarão	189			461			75			14,89009136					487,8306878	#DIV/0!	#DIV/0!	3,128770451	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	21/12/2017

## ANEXO 4 –Curvas Analíticas

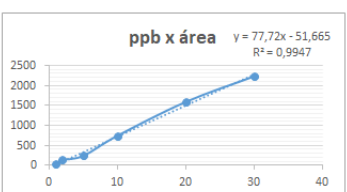
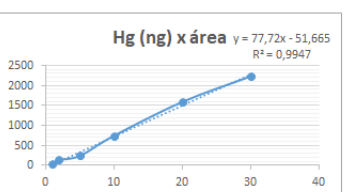
1 Curva 20/07/2017			
ppb	área	Hg (ng)	área
1	39	0,2	39
5	63	1	63
10	173	2	173
20	313	4	313
50	803	10	803
100	1680	20	1680
150	2600	30	2600



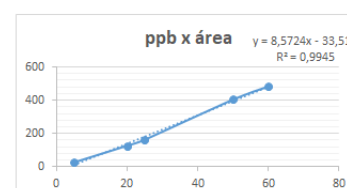
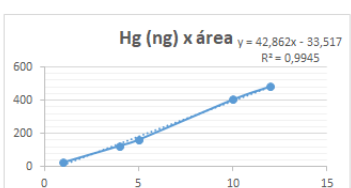
2 Curva 14/07/2017			
ppb	área	Hg (ng)	área
1	64	0,2	64
5	39	1	39
10	188	2	188
25	370	5	370
50	872	10	872
100	1450	20	1450
150	2400	30	2400



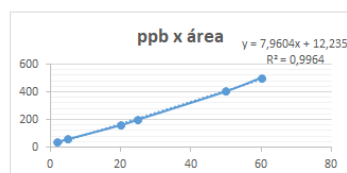
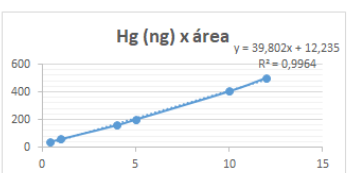
3 Curva 11/07/2017			
ppb	área	Hg (ng)	área
5	36	1	36
10	138	2	138
25	239	5	239
50	742	10	742
100	1590	20	1590
150	2230	30	2230



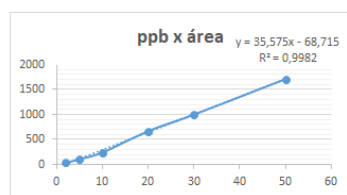
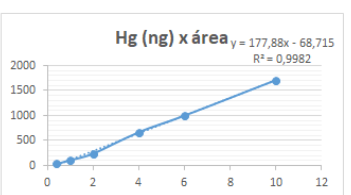
4 Curva 01/11/2017			
ppb	área	Hg (ng)	área
5	27	1	27
20	127	4	127
25	163	5	163
50	404	10	404
60	483	12	483



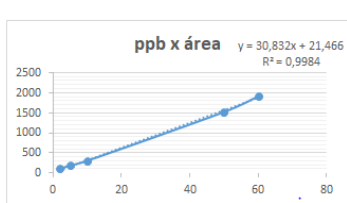
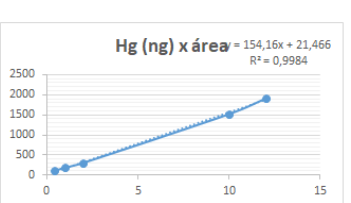
5 Curva 19/11/2017			
ppb	área	Hg (ng)	área
2	38	0,4	38
5	59	1	59
20	159	4	159
25	200	5	200
50	404	10	404
60	503	12	503



6 Curva 21/12/2017			
ppb	área	Hg (ng)	área
2	30	0,4	30
5	107	1	107
10	238	2	238
20	667	4	667
30	999	6	999
50	1709	10	1709



7 Curva 16/01/2018			
ppb	área	Hg (ng)	área
2	102	0,4	102
5	187	1	187
10	304	2	304
50	1520	10	1520
60	1910	12	1910



## ANEXO 5 – Figuras de Desempenho Analítico

### • Ensaio de Fortificação e Recuperação

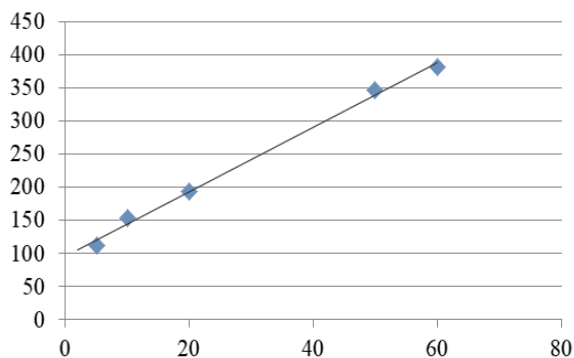
Dopagem (25 ng.g-1)			Concentração (Hg)	Recuperação (%)
200mg	146	24	20,94128	83,76510662
200mg	160	12	22,57442	90,29769959
203mg	160	10	22,57442	90,29769959
203mg	208	14	28,17379	112,6951612
204mg	151	17	21,52454	86,09817554
200mg	211	14	28,52375	114,0950026
<b>Média =</b>			24,05203521	96,20814
<b>Desvio Padrão =</b>			3,388710658	13,55484263

Dopagem (10 ng.g-1)		Concentração (Hg)	Recuperação (%)
201mg	154	11,83737	118,373673
212mg	145	9,989735	99,8973538
202mg	143	9,57915	95,791505
<b>Média =</b>		10,9135525	100,46875
<b>Desvio Padrão =</b>		1,306475238	9,82166937
Dopagem (60 ng.g-1)		Concentração (Hg)	Recuperação (%)
215mg	391	60,49168	100,8195
205mg	403	62,95518	104,9253
215mg	399	62,13401	103,5567
<b>Média =</b>		61,86029	103,1005
<b>Desvio Padrão =</b>		1,741964	2,903274

Leitura do Branco
<b>Resultados</b>
0
5
1
0
5
0
0
<b>Média =</b> 1,571429
<b>Desvio Padrão =</b> 2,370453
<b>Limite de Detecção =</b> 1,4927 ppb
<b>Limite de Quantificação =</b> 2,3633 ppb

Resultados da Fortificação	
Concentração dopagem (ng.g-1)	Recuperação (%)
10	112,6951612
25	104,6875
60	103,1004861
<b>Média =</b> 106,86	
<b>Desvio Padrão =</b> 4,2	

### Curva Fortificação



$$y = 4,8711x + 96,339$$

$$R^2 = 0,996$$

◆ Série1 — Linear (Série1)

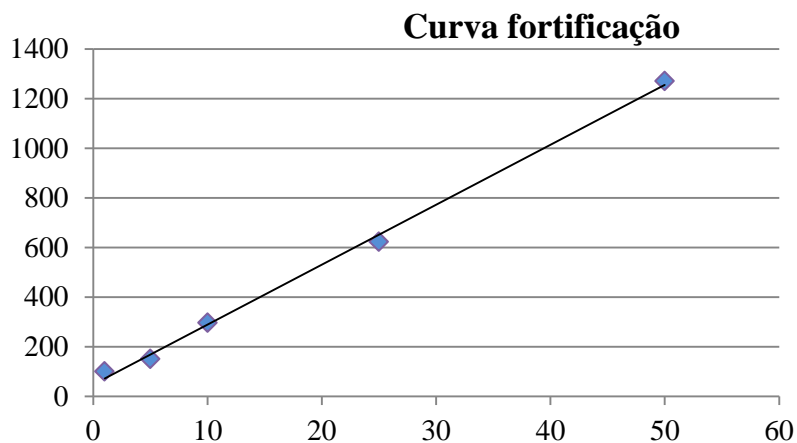
• **Repetibilidade**

ppb	Área							Média	Desv Padrão	Coef Var %	IC ( $\alpha=0,1$ )
	1	2	3	4	5	6	7				
10	227	225	188	241	173	189	280	217,5714286	29,34693878	13,48842	21,55395
50	724	742	872	877	832	782	1260	869,8571429	114,122449	13,11968	83,81759
150	2440	2230	2400	2564	2600	2268	3711,23	2601,89	316,9542857	12,18169	232,7881

• **Fortificação matriz em osso de fêmur**

Dopagem	massa	sinal	ppb	
0	100	198	6,638088631	Média = 3,83605376
0	101	86	2,067779319	Desvio Padrão = 1,86802325
0	100	104	2,802293316	Recuperação = 0%
10	100	254	8,923243287	Média = 8,3247504
10	105	400	14,88096793	Desvio Padrão = 4,76980694
10	103	64	1,17003999	Recuperação = 83,20%
25	101	660	25,49061454	Média = 26,0074948
25	105	651	25,12335755	Desvio Padrão = 0,93401163
25	106	707	27,4085122	Recuperação = 104,00%
50	102	1040	40,99702114	Média = 43,9894856
50	106	1190	47,11797111	Desvio Padrão = 2,08565703
50	104	1110	43,85346446	Recuperação = 87,90%

Dados curva fortificação		
1	100	-320
5	150	-20
10	296	175
25	623	679
50	1270	1750



$$y = 24,138x + 48,489$$

$$R^2 = 0,9976$$

◆ Série1  
 — Linear (Série1)

## ANEXO 6 - Estudo Geoquímico

<p>Estudo geoquímico dos Baurusuchidae da Formação Adamantina, Grupo Bauru, Cretáceo Superior da região de Jales, oeste do Estado de São Paulo.</p> <p><b>Amostras de carbono e oxigênio</b></p> <p>Erro associado: <math>\delta^{13}\text{C} = 0,05\text{‰}</math>, <math>\delta^{18}\text{O} = 0,10\text{‰}</math></p>
--

Análise	Data	num. BSB	Amostra	Carbonato			
				V-PDB $\delta^{13}\text{C}\text{‰}$	V-PDB $\delta^{18}\text{O}\text{‰}$	V-SMOW $\delta^{18}\text{O}\text{‰}$	V-PDB $\delta^{17}\text{O}\text{‰}$
1	17/03/2015	14358	CJ-1	0,78	15,53	46,86	15,37
2	17/03/2015	14359	DJ-1	-4,04	-2,57	28,21	5,99
3	17/03/2015	14360	DJ-2	-3,78	-2,69	28,08	5,93
4	17/03/2015	14361	DJ-3a	-5,55	-3,60	27,15	5,45
5	17/03/2015	14362	DJ-4	-2,04	-0,60	30,24	7,02
6	17/03/2015	14363	OJ-1	-2,20	-1,22	29,61	6,70
7	17/03/2015	14364	OJ-2	-1,88	-1,09	29,74	6,76
8	17/03/2015	14365	OJ-3	-0,55	0,77	31,65	7,73
9	17/03/2015	14366	OJ-4	-3,19	-4,30	26,43	5,09
10	17/03/2015	14367	OJ-5	-2,19	-0,78	30,05	6,92
11	17/03/2015	14368	DZM-1	-3,47	2,19	33,11	8,46
12	17/03/2015	14369	DZM-2	-4,65	-9,33	21,24	2,47

Os resultados das análises realizadas em dentes de baurusuquídeos reportam um valor de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -2,04 e -4,04‰. Em conformidade com os trabalhos de Cerling et al (1997), Lee Thorp et al (1998), Cerling & Harris (1999), Mac Faden et al (1999) que consideram valores próximos de -6‰ para carnívoros comedores de herbívoros ou itens marítimos, os dados aqui apresentados podem ser relacionados a uma preferência alimentar oportuna em que baurusuquídeos tem como item trófico animais herbívoros e ou onívoros. Vide evidência direta de predação “fóssil in fóssil” em Godoy et al (2014) como suporte teórico.